

PRÜFUNG EINFACHER UNTERSUCHUNGS-
METHODEN ZUR BEURTEILUNG DER
BIOLOGISCHEN SCHADWIRKUNG VON
ZIERVOGELFUTTER IM TIERÄRZTLICHEN LABOR

Sigrid Karle

1988

Disbui. München

1988



Aus dem
Staatlichen Tierärztlichen Untersuchungsamt
Aulendorf
Leiter: Ltd. Reg. Vet. Dir. Dr. B. Müller

vorgelegt über das
Institut für Geflügelkrankheiten
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München
Vorstand: Prof. Dr. J. Kösters

PRÜFUNG EINFACHER UNTERSUCHUNGSMETHODEN
ZUR BEURTEILUNG DER BIOLOGISCHEN
SCHADWIRKUNG VON ZIERVOGELFUTTER
IM TIERÄRZTLICHEN LABOR

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Sigrid Karle
aus
Reutlingendorf

München 1988

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. M. Rüsse

Referent: Prof. Dr. J. Kösters

1. Korreferent: Prof. Dr. J. Gropp

2. Korreferent: Prof. Dr. B. Gedek

Tag der Promotion: 29. Juli 1988

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. EINLEITUNG	1
2. KURZGEGEBEN	2
2.1. Kurzgefaßtes zum Vegetarier	2
2.1.1. Einführung der vegetarischen Ernährung	2
2.1.2. Bedeutung der vegetarischen Ernährung	2
2.1.3. Vegetarische Vorschriften für Vegetarier	3
2.2. Quantitative Untersuchung des Futters	3
2.2.1. Methode und Ziel der quantitativen Analyse	3
2.2.2. Quantitative Untersuchung	4
2.2.2.1. Aschengehaltbestimmung	4
2.2.2.2. In Aschigengehalt enthaltenen Stoffen mit chemisch-physikalischen Methoden	5
2.2.2.3. Versäuerungsgrad des Futters	6
2.2.2.4. Weitere quantitative Untersuchung	10
2.3. Chemische Untersuchung des Futters	11
2.3.1. Nährwertbestimmung der einzelnen Futterarten	11
2.3.2. Futterzusätze	11
2.3.3. Futterzusätze	12
3.1. Fleischkriterien	12
3.1.1. Fleischkriterien	12
3.1.2. Weitere Fleischkriterien	12
3.2. Mikrobiologische Untersuchung des Futters	12
3.2.1. Bedeutung der mikrobiologischen Untersuchung	12

Meinen Eltern

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
<u>1. EINLEITUNG</u>	1
<u>2. SCHRIFTTUM</u>	2
2.1. Allgemeines zum Vogelfutter	2
2.1.1. Ernährung der verschiedenen Vogelarten	2
2.1.2. Empfohlene Futterzusammensetzungen	2
2.1.3. Rechtliche Vorschriften für Vogelfutter	6
2.2. Sensorische Untersuchung des Futters	8
2.2.1. Aufgabe und Ziel der sensorischen Prüfung	8
2.2.2. Qualitative Untersuchung	8
2.2.2.1. Samenidentifikation	9
2.2.2.2. In Vogelfutter enthaltene Samen- arten mit gesundheitsschädlichen Inhaltsstoffen	9
2.2.2.3. Verunreinigungen und ihre Wir- kungen	14
2.2.3. Quantitative Untersuchung	16
2.3. Chemische Untersuchung des Futters	17
2.3.1. Nährstoffgehalte der einzelnen Samenarten	17
2.3.2. Wassergehalt	17
2.3.3. Fettkennzahlen	18
2.4. Frischekriterien	22
2.4.1. Keimfähigkeitsprobe	22
2.4.2. Weitere Haltbarkeitsproben	22
2.5. Mikrobiologische Untersuchung des Futters	23
2.5.1. Bedeutung der mikrobiologischen Unter- suchung	23

2.5.2. Keimstatus pflanzlicher Futtermittel	23
2.5.2.1. Nicht pathogene Keimarten	25
2.5.2.2. Pathogene Keimarten	27
2.5.3. Mikrobiologische Untersuchungstechniken für Futtermittel	28
2.5.3.1. Standardmethoden der ICC	28
2.5.3.2. Methoden anderer Autoren	29
2.5.3.3. Nachweisverfahren pathogener Keimarten	31
2.6. Mykotoxikologische Untersuchung des Futters	32
2.6.1. Allgemeine Eigenschaften von Mykotoxinen	32
2.6.2. Wirkungen von Mykotoxinen bei Vögeln	33
2.6.3. Nachweisverfahren für Mykotoxine	40
2.6.3.1. Physikalisch-chemischer Nachweis von Mykotoxinen	40
2.6.3.2. Biologischer Nachweis von Myko- toxinen	41
2.6.3.2.1. Hühnerembryotest	42
2.6.3.2.2. Zell- und Organkultur	42
2.6.3.2.3. Salinenkrebstest	44
2.6.3.2.4. Hauttoxizitätsprobe	44
2.6.3.2.5. Pollenkeimung mit Ziertabak	45
2.6.3.2.6. Erbsenkeimung	45
2.6.3.2.7. Mäusetoxizitätsprobe	46
2.6.3.3. Kombination biologischer mit phy- sikalisch-chemischen Verfahren	46
2.6.3.4. Immunologische Nachweisverfahren	47

3. MATERIAL UND METHODEN

3.1. Untersuchungsmaterial	48
----------------------------	----

3.2. Sensorische Untersuchung des Futters	48
3.2.1. Qualitative Untersuchung	48
3.2.1.1. Durchführung	48
3.2.1.2. Auswertung	49
3.2.2. Quantitative Futterzusammensetzung	50
3.2.2.1. Durchführung	50
3.2.2.2. Auswertung	51
3.3. Chemische Untersuchung des Futterfettes	51
3.3.1. Peroxidzahl	52
3.3.2. Säurezahl	52
3.4. Frischekriterien	53
3.4.1. Keimfähigkeitsprobe	53
3.4.1.1. Durchführung	53
3.4.1.2. Auswertung	53
3.4.2. Löschpapierprobe	54
3.5. Mikrobiologische Untersuchung des Futters	54
3.5.1. Durchführung	54
3.5.2. Auswertung	55
3.6. Mykotoxikologische Untersuchung des Futters	57
3.6.1. Futtermittelextraktion	57
3.6.2. Mykotoxinstandards und Lösungsmittel	58
3.6.3. Salinenkrebstest	59
3.6.3.1. Durchführung	59
3.6.3.2. Auswertung	61
3.6.3.3. Einfluß verschiedener Samenarten auf die Absterberate der Larven	61
3.6.4. Erbsenkeimung	61
3.6.4.1. Durchführung	61
3.6.4.2. Auswertung	62
3.6.5. Trachealkulturen	62
3.6.5.1. Durchführung	62
3.6.5.2. Auswertung	64



3.6.6. Zellkulturen	64
3.6.6.1. Durchführung	64
3.6.6.2. Auswertung	65
 4. ERGEBNISSE	
4.1. Sensorische Untersuchung des Futters	67
4.1.1. Qualitative Zusammensetzung von Futter- mitteln	67
4.1.2. Quantitative Zusammensetzung von Futter- mitteln	70
4.2. Chemische Untersuchung des Futterfettes auf Per- oxid- und Säurezahl	73
4.3. Frischekriterien	74
4.3.1. Keimfähigkeit	74
4.3.2. Löschpapierprobe	75
4.4. Mikrobiologische Untersuchung des Futters	76
4.5. Toxikologische Untersuchung des Futters	77
4.5.1. Mykotoxikologische Untersuchungen	77
4.5.1.1. Salinenkrebstest	77
4.5.1.2. Erbsenkeimung	79
4.5.1.3. Trachealkulturen	79
4.5.1.4. Zellkulturen	80
4.5.2. Prüfung auf Pestizidrückstände	82
 5. DISKUSSION	83
 6. ZUSAMMENFASSUNG	89
 7. ANHANG	92
 8. LITERATURVERZEICHNIS	95

1. EINLEITUNG

In der Bundesrepublik Deutschland werden bereits in jedem zehnten Haushalt Ziervögel gehalten, deren Gesamtzahl 1986 bei 7,5 Millionen Tieren lag. Pro Jahr werden für das Futter 194 Millionen DM aufgewendet, was knapp der Hälfte der Gesamtausgaben auf dem Ziervogelsektor entspricht (EGGERT et al., 1983; ANONYM, 1984; ISENBÜGEL, 1986).

Bei plötzlichen Todesfällen von Ziervögeln wird ein tierärztliches Labor häufig vor die Aufgabe gestellt, das vom Besitzer als Todesursache verdächtige Futter auf seine möglichen biologischen Schadwirkungen hin zu überprüfen.

Zwar gibt es allgemein anerkannte Untersuchungsmethoden für Futtermittel, doch werden diese der speziellen Problematik bei der Untersuchung von Ziervogelfutter nicht in erforderlichem Ausmaß gerecht. Die Gründe liegen zum einen in der Zusammensetzung des Ziervogelfutters aus ganzen Körnern, Samen und Früchten, aus denen die Vögel je nach Geschmack beliebig auswählen. Gesamtanalysen der enthaltenen Nährstoffe sind deshalb für Ziervögel ohne Bedeutung. Zum anderen ist der Kostenfaktor der Untersuchungen im Vergleich zum Wert der betroffenen Tiere zu berücksichtigen, so daß teure Rückstandsuntersuchungen nur in Ausnahmefällen in Betracht kommen. Außerdem stehen häufig nur noch geringe Mengen des verdächtigen Futters für die Untersuchung zur Verfügung.

Deshalb war es Ziel der vorliegenden Arbeit, einfache, materialsparende, kostengünstige und doch effektive Methoden zu finden, die eindeutige Aussagen über die biologische Schadwirkung des untersuchten Ziervogelfutters ermöglichen.

2. SCHRIFTTUM

2.1. Allgemeines zum Vogelfutter

2.1.1. Ernährung der verschiedenen Vogelarten

Nach der jeweiligen Hauptnahrung der verschiedenen Vogelarten unterscheidet man nach AECKERLEIN (1986) zwischen Körner-, Insekten-, Frucht-, Nektar-, Fleisch- und Fischfressern.

Die am häufigsten gehaltenen Ziervogelarten, wie z. B. Wellensittich oder Kanarienvogel, werden zur Gruppe der Körnerfresser gerechnet. Sie ernähren sich hauptsächlich von einer Vielzahl verschiedener Körner und Samen, besonders aus den Pflanzenfamilien der Süßgräser (*Gramineae*), der Kreuz- (*Cruciferae*) und Korbblütler (*Compositae*) und anderer (TOLLEFSON, 1982).

Die Zusammensetzung spezieller Futtermittel für Vögel muß die Ernährungsgewohnheiten der jeweiligen Vogelart berücksichtigen. In Abhängigkeit von inneren Faktoren, wie Wachstum, Mauser oder Brut und äußeren Einflüssen, wie Klima und Jahreszeit, ändern sich die Nahrungsansprüche (AECKERLEIN, 1986).

2.1.2. Empfohlene Futterzusammensetzungen

Nach DOLPHIN (1987) sind für viele Vogelarten noch keine genauen Angaben über ihren Nahrungsbedarf bekannt, dies ist nicht verwunderlich, da sich das in der Natur verfügbare Nahrungsangebot je nach örtlichen, klimatischen und jahreszeitlichen Bedingungen erheblich verändert und somit enorm variiert.

Für die am häufigsten gehaltenen Ziervogelarten in ausgewachsenem und nicht brütendem Zustand werden folgende Futtermischungen empfohlen:

Ordnung Psittaciformes, Fam. Psittacidae:

Wellensittich (*Melopsittacus undulatus*):

Erwachsene Wellensittiche nehmen pro Tag etwa 6 Gramm Samenreien auf, die nach BICE (1956) zu 80 % aus Kanariensaat und zu 20 % aus anderen Samenarten bestehen.

Neuere Autoren empfehlen folgende Zusammensetzungen:

Rutgers (1968): 1/4 Teil Kanariensaat

1/4 Teil weiße und gelbe Hirse

je 1/8 Teil Hafer, Sonnenblumenkerne, Hanf
und Erdnüsse

Arnall/Keymer (1975): 3 Teile Kanariensaat

1 Teil weiße oder gelbe Hirse

1 Teil Japanhirse

1 Teil proteinreiche Samen (Raps,
Hanf, Karde, Leinsamen)

Muller (1978): 2 Teile weiße Hirse

2 Teile Kanariensaat

1 Teil rote oder gelbe Hirse

1 Teil Hafer, entschält

1 Teil Weizen

Schultz (1981): 10 % Kanariensaat

80 % verschiedene Hirsearten

10 % andere Samen (Sonnenblumenkerne,
Negersaat, Erdnüsse)

Aeckerlein (1986): 80 % verschiedene schnabelgerechte
Hirsearten

15 % Hafer, entschält oder
Kanariensaat

5 % Ölsamen (Hanf, Raps, Negersaat)

Amazona spp., Ara spp., Psittacus spp.:

Arnall/Keymer (1975): 2 Teile Kanariensaat
1 Teil weiße Hirse
1 Teil Kolbenhirse
1 Teil Hanf
1 Teil Sonnenblumenkerne
1 Teil Erdnüsse

Muller (1978): 1 Teil Sonnenblumenkerne
2 Teile Weizen
1 Teil Milokorn
1 Teil Hafer, entschält
1 Teil Mais
1 Teil Erdnüsse

Tollefson (1982): 1 Teil Sonnenblumenkerne
1 Teil Kanariensaat
1 Teil Weizen
1 Teil Hafer
1 Teil weiße Hirse

Dorrestein et al. (1982): 20 % Sonnenblumenkerne
5 % Hirse
10 % Paddy-Reis
5 % Hafer, entschält
10 % Weizen
10 % Buchweizen
10 % Kanariensaat
5 % Hanf
5 % Gerste
10 % Mais
5 % Milokorn
5 % Erdnüsse

Fam. Cacatuidae:

Nymphensittich (*Nymphicus hollandicus*):

Muller (1978): 1 Teil weiße Hirse
1 Teil Kanariensaat
1 Teil Weizen
1 Teil Hafer, entschält
1 Teil Sonnenblumenkerne
1 Teil Milokorn

Ordnung Passeriformes:

Kanarienvogel (*Serinus canarius*):

Nicht brütende erwachsene Kanarienvögel nehmen täglich etwa 3,4 Gramm Sämereien auf (BICE, 1956).

Folgende Futterzusammensetzungen werden empfohlen:

Rutgers (1968): 25 % Kanariensaat
25 % weiße Hirse
25 % gelbe Hirse
25 % Senegalhirse

Arnall/Keymer (1975): 5 Teile Kanariensaat
3 Teile Raps
1 Teil weiße und gelbe Hirse
1 Teil Japan- oder Kolbenhirse

Muller (1978): 2 Teile weiße Hirse
1 Teil rote Hirse
2 Teile Kanariensaat
1 Teil Hafer, entschält
1 Teil Raps

Schultz (1981): 30 % Kanariensaat
70 % verschiedene Hirsearten

andere Finkenarten (Waldvögel und andere):

Nach TOLLEFSON (1982) sind die meisten Finkenvögel Körnerfresser, obwohl einige Arten regelmäßig, andere in der Brutzeit Nahrung tierischen Ursprungs aufnehmen.

Arnall/Keymer (1975): grundsätzlich wie Wellensittichfutter, Raps kann entfallen

Muller (1978): wie Kanarienfutter

Für wachsende, mausernde oder brütende Tiere gibt es besondere Empfehlungen zur Fütterung, zum Beispiel von SCHULTZ (1981) oder AECKERLEIN (1986). Diese Futtermittel enthalten fast immer Ei, daneben auch Paniermehl, Nährhefeflocken, Hundeflocken, Baby-Nahrungsflocken und ähnliches (SCHNABL, o.J.). Hierbei besteht bei unzureichender Erhitzung des Eianteiles die Gefahr der Einschleppung von Salmonellen oder Paramyxoviren.

Weitere Empfehlungen für geeignete Ziervogelfuttermischungen finden sich bei SCHNABL (o.J.) und in einem Prospekt der Heimtierfutterfirma DACAPO (ANONYM, o.J.).

2.1.3. Rechtliche Vorschriften für Ziervogelfutter

Herstellung, Lagerung, Werbung und Vertrieb von Futtermitteln für Vögel unterliegen den Richtlinien des Rates der Europäischen Gemeinschaften über den Verkehr mit Mischfuttermitteln (Richtl.: MischFM) vom 02.04.1979 in der Fassung vom 21.07.1986, der Richtlinie über unerwünschte Stoffe und Erzeugnisse in der Tierernährung (Richtl.: unerwünschte Stoffe) vom 17.12.1973 in der Fassung vom 21.07.1986 und der Richtlinie vom 23.11.1970 über Zusatzstoffe in der Tierernährung (Richtl.: Zusatzstoffe) in der Fassung vom 29.11.1984. Innerhalb der Bundesrepublik Deutschland gelten

die Bestimmungen des Futtermittelgesetzes (FMG) vom 02.07.1975, zuletzt geändert am 12.01.1987 und der Futtermittelverordnung (FMV) vom 08.04.1981, zuletzt geändert am 02.01.1987. Für die amtliche Untersuchung von Futtermitteln sind die EG-Richtlinien vom 20.07.1970 über die Einführung gemeinschaftlicher Probenahmeverfahren und Analysenmethoden und die Futtermittel-Probenahme- und -Analyse-Verordnung vom 14.03.1978 für die Untersuchung von Futtermitteln im Rahmen der amtlichen Überwachung (§ 19 Abs. 1 FMG) gültig. Im § 1 FMG wird sichergestellt, daß die Gesundheit von Tieren durch Futtermittel nicht beeinträchtigt werden darf. Nach § 2 FMG rechnen Gänse, Enten, Hühner und Truthühner zu den Nutztieren, während die übrigen Vögel nach § 1 FMV und Art. 2 Richtl.: MischFM zu den Heimtieren ("Tiere von Arten, die üblicherweise vom Menschen gefüttert und gehalten, aber nicht verzehrt werden, ausgenommen Pelztiere") zählen und somit unter die jeweiligen gesetzlichen Bestimmungen für Nutz- bzw. Heimtiere fallen.

§ 4 FMG ermöglicht die Festsetzung von Höchstgehalten an unerwünschten oder die Angabe verbotener Stoffe in Futtermitteln; in Anlage 5 zur FMV wird eine Reihe von Schadstoffhöchstgehalten angegeben, so ist z. B. in Alleinfuttermitteln für Heimtiere ein Höchstgehalt von 0,01 mg/kg Aflatoxin B₁ festgesetzt; weiterhin gibt es Begrenzungen für verschiedene Schwermetalle (z. B. Blei, Cadmium, Quecksilber) und Pestizide (Aldrin, Dieldrin, DDT und andere).

§ 7 FMG verbietet die Werbung für Futtermittel mit irreführenden Angaben, insbesondere über leistungsbezogene oder gesundheitliche Wirkungen. § 9 FMV erlaubt die Verwendung nicht zugelassener Einzelfuttermittel in Mischfuttermitteln für Heimtiere.

Nach § 11 FMV muß auf Mischfuttermittelpackungen folgende Kennzeichnung angegeben sein: die Bezeichnung des Futtermittels, die Tierart, für die es verwendet werden soll, das Nettogewicht, die Zeit der Herstellung mit Monat und Jahr, der Verwendungszweck und Name und Anschrift des für das

Inverkehrbringen Verantwortlichen. Nach § 13 (1) 3.g gibt es für Vogelfutter, das unter die Kategorie "Heimtierfutter" fällt, keine obligatorische Inhaltsstoffangabe. Auch die Einzelfuttermittel müssen nicht angegeben werden (§ 13 (2), FMV). Da Ziervogelfutter aus ganzen Körnern, Samen oder Früchten besteht, braucht nach § 13 (4) keine Angabe der Gehalte an Inhaltsstoffen erfolgen.

§ 14 FMV läßt für Heimtierfuttermittel zusätzlich folgende Angaben zu: Handelsmarke/Warenzeichen, Hersteller, Handelsbezeichnung, Bezugsnummer/Partie, Haltbarkeitsdauer, Erzeuger-, Herstellerland, Preis, Gehalte an Rohprotein, Rohfett, Rohfaser, Rohasche, Calcium, Phosphor, Natrium und Wasser.

In Anlage 2 zur FMV sind verschiedene Normfuttermittel für Enten, Gänse, Hühner und Truthühner aufgelistet, für andere Vogelarten gibt es noch keine durch Verordnungen festgelegten Normtypen.

In der Probenahme-Verordnung sind genaue Vorschriften über Art, Umfang und Durchführung der Futtermittelprobennahme enthalten.

2.2. Sensorische Untersuchung des Futters

2.2.1. Aufgabe und Ziel der sensorischen Prüfung

STÄHLIN beschrieb 1957 die Aufgaben der grobsinnlichen Futteruntersuchung. Danach soll durch sie unter anderem "die Echtheit, Zusammensetzung, Verunreinigung, Verfälschung, Unschädlichkeit, Ungiftigkeit, Frische, Beschaffenheit, Haltbarkeit und Preiswürdigkeit" festgestellt werden können.

2.2.2. Qualitative Untersuchung des Futters

2.2.2.1. Samenidentifikation

Angaben und photographische Abbildungen zur Identifikation der häufigsten in Vogelfutter vorkommenden Samenarten finden sich bei TOLLEFSON (1982).

Ähnliche Informationen mit Erwähnung des Anbaugebietes und der Erntezeit sind einem Prospekt der Firma DACAPO (ANONYM, o.J.) zu entnehmen.

Die häufigsten Bestandteile von Körnermischfuttermitteln für Vögel sind in Tabelle I zusammengefaßt.

2.2.2.2. In Vogelfutter enthaltene Samenarten mit gesundheitsschädlichen Inhaltsstoffen

Getreidearten wie Weizen, Mais, Hafer, Gerste, Reis und Buchweizen enthalten in ihren Samen Trypsin- und Chymotrypsinhemmstoffe und nehmen dadurch nachteiligen Einfluß auf Wachstum und Proteinverwertung (LINDNER, 1986).

Buchweizen, der häufig als Waldvogelfutter zum Einsatz kommt, enthält in den blühenden Pflanzen fluoreszierende Farbstoffe mit photodynamischen Eigenschaften (Rohchlorophyll oder Schalenfarbstoffe), die nach Aufnahme im Tierkörper den sogenannten Fagopyrismus auslösen. Dieser äußert sich in einer erhöhten Empfindlichkeit der unpigmentierten Haut gegenüber Sonnenlicht, kann aber auch in Form von nervösen Erscheinungen auftreten. Beobachtungen dieser Erkrankung liegen beim Fasan vor (STÄHLIN, 1957).

Rapsverfütterung kann bei Geflügel eine als "Kohlanämie" bezeichnete Erkrankung mit Fieber und Blutharnen auslösen. Hennen legen bei starker Rapsfütterung Eier mit sehr dunkel gefärbtem Dotter (STÄHLIN, 1957).

Tab. I: Übersicht und Beschreibung der wichtigsten in Vogelfutter enthaltenen Samenarten (nach TOLLEFSON, 1982 und AECKERLEIN, 1986 mit Ergänzungen *)

Samenart	Beschreibung	Verwendung für **
GRAMINEAE - SÜSSGRÄSER		
Silberhirse (Abb.1)*** <i>Panicum miliaceum</i> L.	2x3 mm, rund-oval, weiß, glänzend	Ws, F, P, K
Gelbe Hirse (Abb. 2) <i>Panicum</i> spp.	1,5x2,5 mm, rund-oval, blaß-gelb	S, F, K
Rote Hirse (Abb. 3) <i>Panicum</i> spp.	2x3 mm, rund-oval, dunkelrot, glänzend	S, F, K
Japanhirse (Abb. 4) <i>Echinochloa crusgalli</i> (L.) Pal. Beauv.	1x2 mm, rund-oval, graugrün	F, K
Kanariensaat (Abb. 5) <i>Phalaris canariensis</i> L.	2x5 mm, länglich-spitz, grau-braun, glänzend	K, S, F, Wv
Weizen (Abb. 6) <i>Triticum vulgare</i> Vill.	4x6 bis 9x11 mm, stumpf spindelförmig, rotgelb, tiefe Längsrinne	P, S, F
Hafer, entschält (Abb. 7) <i>Avena sativa</i> L.	3x7 mm, länglich-spitz, mattgelb, fein behaart, flache Längsrinne	Ws, P
Gerste (Abb. 8) <i>Hordeum vulgare</i> L.	3x10 mm, länglich-spitz, gelbbraun, matt	P
Paddy-Reis (Abb. 9) <i>Oryza sativa</i> L.	3x8 mm, oval, gelbbraun, mehrere flache Längsrinnen	F, S, P
Milokorn (Abb. 10) <i>Andropogon sorghum</i> (L.) Brot.	4 mm Durchmesser, rundlich, rot oder weiß, matt	P
Mais (Abb. 11) <i>Zea mays</i> L.	4x8 mm, keil- bis zahnförmig mit abgerundeter Spitze, glänzend-gelb	P
POLYGONACEAE - KNÖTERICHGEWÄCHSE		
Buchweizen (Abb. 12) <i>Fagopyrum esculentum</i> Moench	4x6 mm, dreikantig, zugespitzt, grau-braun, Seitenflächen federförmig gezeichnet	Wv, P
CRUCIFERAE - KREUZBLÜTLER		
Raps/Rübsen (Abb. 13) <i>Brassica</i> spp.	2,5 Durchmesser, rund, schwarz bis rötlich, gelber Kern	Wv, K

Fortsetzung Tab. I

Samenart	Beschreibung	Verwendung für **
LINACEAE - LEINGEWÄCHSE		
Leinsamen (Abb. 14) <i>Linum usitatissimum</i> L.	2x5 mm, flach, längsoval, mittel- braun, glänzend	Wv, K
COMPOSITAE - KORBBLÜTLER		
Negersaat (Abb. 15) <i>Guizotia abyssinica</i> (L.)	1,5x5 mm, bananenförmig gebogen, schwarz	K, Wv, F, Ws
Sonnenblumenkern (Abb. 16) <i>Helianthus annuus</i> L.	6x20 mm, abgeflacht, längsoval, weiß, schwarz oder schwarz-weiß gestreift	P, S, Wv
Salatsamen (Abb. 17) <i>Lactuca sativa</i> L.	1x5 mm, flach, scharf gerandet, länglich-spitz, grau mit 7 weißen Längsrinnen	Wv, F
PAPAVERACEAE - MOHNGEWÄCHSE		
Mohnsamen (Abb. 18) <i>Papaver somniferum</i> L.	0,5x1 mm, nierenförmig, blaugrau, netzartige Oberflächenzeichnung	F, Wv
MORACEAE - MAULBEERGEWÄCHSE		
Hanf (Abb. 19) <i>Cannabis sativa</i> L.	3x5 mm, rund-oval, weiße Basis und Seitenrippen, braun, weiß geädert	K, Ws, Wv
DIPSACACEAE - KARDENGEWÄCHSE		
Karde (Abb. 20) <i>Dipsacus</i> spp.	1,5x4 mm, längsoval, weiß, mehrere Längsrippen	P
PEDALIACEAE - SESAMGEWÄCHSE		
Sesam (Abb. 21) <i>Sesamum indicum</i> (L.) D.C.	2x4 mm, birnenförmig, abgeflacht, strohgelb	Wv, K
LEGUMINOSAE - HÜLSENFRÜCHTE		
Erdnuß (Abb. 22) <i>Arachis hypogaea</i> L.	fahlgelbe Schale mit netzartig ver- bundenen Rippen, Kern: 6x15 mm, von dünner kupferfarbener Haut umgeben, Längsrinne in der Mitte der Innenseite	P
Sojabohne (Abb. 23) <i>Glycine max</i> L.	ca. 4x5 mm, queroval, grün, glatt, glänzend	P
CUCURBITACEAE - KÖRBISGEWÄCHSE		
Kürbiskern (Abb. 24) <i>Cucurbita pepo</i> L.	10x15 mm, längsoval, flach, mattbeige, 1 mm breiter ockerfarbener Saum	P

Fortsetzung Tab.I

Samenart	Beschreibung	Verwendung für **
LABIATAE - LIPPENBLÜTLER		
Perillasaat (Abb. 25)	2 bis 3 mm Durchmesser, rostrot,	Wv, F
Perilla ocimoides L.	matt	
ROSACEAE - ROSENGEWÄCHSE		
Ebereschenbeere (Abb. 26)	ca. 8x10 mm, oval, rotbraun,	Wv
Sorbus aucuparia L.	getrocknet	
PINACEAE - KIEFERNGEWÄCHSE		
Fichtensamen (Abb. 27)	2x5 mm, längsoval, hellbraun,	Wv
Picea abies (L.) Karst.	mehrere dunkelbraune Längsfurchen	
Zirbelnuß (Abb. 28)	5x10 mm, hell- bis dunkelbraun,	P
Picea cembra L.	unregelmäßige Oberfläche, längsoval	

* mit erheblichen Unterschieden je nach Sorte, Standort, Ernte

** Abkürzungen: F = Finkenvögel S = Sittiche
 K = Kanarienvögel Ws = Wellensittiche
 P = Papageien Wv = Waldvögel

*** Abbildungen siehe Anhang (Seite 90 ff)

Nach LINDNER (1986) führt die zu 40 bis 50 % in Rapsöl enthaltene Erucasäure bei Fütterung in großer Menge zu Myocardschädigungen infolge starker Fettablagerungen im Herzmuskel.

Daneben enthält Raps eine Reihe strumigener Substanzen (Progoitrin, Glucobrassicin, Neoglucobrassicin). Die kropfbildende Wirkung kann durch Mangel an Jod, Carotin oder Vitamin A noch erheblich verstärkt werden. Die strumigenen Substanzen hemmen kompetitiv die Aufnahme von Jod an den Rezeptorstellen am Schilddrüsenepithel oder verhindern die Oxidation des Jodids zum Jod, so daß kein Trijodthyronin bzw. Thyroxin gebildet werden kann. Diese nachteilige Wirkung des Raps wird in manchen Handelsfuttermitteln für Vö-

gel durch künstlichen Zusatz von Jodkörnern ausgeglichen. Durch züchterische Fortschritte gibt es mittlerweile sogenannten Null- bzw. Null-Null-Raps-Sorten, in denen der Gehalt an Eucasäuren und Senfölen erheblich reduziert ist. Außerdem bestehen futtermittelrechtliche Beschränkungen für Senföle in Alleinfuttermitteln auf Gehalte von maximal 150 mg/kg (Anlage 5 zur FMV).

Leinsamen enthalten je nach Herkunft bis zu 1,5 % des Blausäureglykosids Linamarin, das Vergiftungserscheinungen (Atemlähmung, Krämpfe, Tod) hervorrufen kann; durch Aufkochen wird es jedoch weitgehend unschädlich gemacht (STÄHLIN, 1957). Die bis zu 6,3 % in der Schale des Leinsamens enthaltenen Schleimstoffe erzeugen bei Küken Wachstumsverzögerung, Schnabelnekrosen, Durchfall und bei Truthühnern sogar Todesfälle (STÄHLIN, 1957).

Vor allem die Verfütterung nicht ausgereifter Mohnsamen ist wegen ihres Gehaltes an Alkaloidresten bedenklich; es kann zu Erregungszuständen, Krämpfen, Obstipationen, Nerven- und Atemlähmungen kommen. Jedoch sind Tauben, Hühner und Enten unempfindlicher gegenüber Morphinen als Haussäugetiere (STÄHLIN, 1957).

Erdnüsse enthalten in den Samen Trypsin- und Plasmininhibitoren sowie strumigene Substanzen in der Schalenhaut (LINDNER, 1986).

Sojabohnen enthalten im Samen eine Reihe enzymhemmender Substanzen wie Trypsin-, Chymotrypsin-, Elastase-, Plasmin- und Thromboplastininhibitoren. Bei Hühnern entwickelt sich nach länger andauernder Fütterung roher Sojabohnen eine Pancreashypertrophie (LINDNER, 1986).

Daneben enthalten Sojabohnen fünf verschiedene Saponine (Sojasapogenol A-E), die stark hämolysierend und schäumend wirken (LINDNER, 1986). Durch geeignete Erhitzung können

die meisten Hemmstoffe unwirksam oder zumindest in ihrer Aktivität stark gemindert werden.

Aus Perillasaat wurde ein Lungentoxin (3-Keto substituiertes Furan) isoliert, das zu schweren Schäden am Alveolarepithel der Lunge und zu Emphysemen führt (LINDNER, 1986).

Fichtensamen enthalten Glykoside (Picein), Terpentinöl, Harze und Bitterstoffe (Piniciorretin, Pinipicrin) (STÄHLIN, 1957).

Die für Magellanzeisige als Futter verwendeten Seneciosamen (Greiskraut spp.) enthalten Alkaloide (Senecin, Senecionin), die als kumulative Gifte wirken. Vergiftungen äußern sich in Speichelfluß, Krämpfen, Magen- und Darmerkrankungen, Leberschädigungen und Abmagerung (STÄHLIN, 1957).

2.2.2.3. Verunreinigungen von Futter und ihre Wirkungen (nicht mikrobiologischer oder mykotoxikologischer Art)

Als mögliche Verunreinigungen in Körnermischfuttermitteln sind unter anderem zu nennen: Unkrautsamen, Steine, Erdbröckchen, Sand, Staub, Nagerkot und tierische Schädlinge (STÄHLIN, 1957; MEYER et al., 1983).

Unkrautsamen sind häufig giftig oder gesundheitsschädlich, so zum Beispiel Kornrade, Rittersporn, Ackersenf, Unkrautwicken und Wolfsmilch (PECKHAM, 1984). Nach Anlage 5 zur Futtermittelverordnung dürfen Unkrautsamen und Früchte, die Alkaloide, Glykoside oder andere giftige Stoffe enthalten, in allen Futtermitteln nur bis zu einem Höchstgehalt von 3000 mg je kg Futtermittel enthalten sein, Crotalaria-Arten nur bis zu 100 mg/kg, die hochgiftigen Arten Datura stramonium, Lolium remotum und Lolium temulentum bis zu Höchstgehalten von 1000 mg je kg Futtermittel (Anlage 5 zur FMV). Daneben können Unkrautsamen Geruch und Geschmack des Futtermittels nachteilig beeinflussen (STÄHLIN, 1957).

Steine, Erdbröckchen, Sand und Staub sind bei unzureichender Reinigung der Futtermittelchargen in größerem Ausmaß vorhanden und können Verdauungsbeschwerden verursachen; gleichzeitig bewirken sie eine Gewichtserhöhung der jeweiligen Packungseinheit.

Künstliche Zusätze in Form von Mineralpellets, Jodkörnchen oder Vitaminbiskuits sind häufig in handelsüblichen Futtermischungen vorhanden und wegen ihrer Form und Farbe nicht mit obengenannten Verunreinigungen zu verwechseln.

Zu den wichtigsten tierischen Schädlingen in Körnern und Samen gehören nach STEIN (1986) Kornmotte (*Nemapogon granellus* L.), Getreidemotte (*Sitatroga cerealella* Olivier), Kornkäfer (*Sitophilus granarius* L.), Getreideplattkäfer (*Oryzaephilus surinamensis* L.) sowie der Getreideschimmelskäfer (*Alphitobius diaperinus* Panz.). Letzterer gilt als Überträger verschiedener Geflügelkrankheiten, wie z. B. der Marek'schen Krankheit, der Infektiösen Bursitis und der Salmonellose (GEISSLER und KÖSTERS, 1972).

Bei zu feuchter und warmer Aufbewahrung treten in Körnerfuttermitteln zuweilen Mehlmilben (*Acarus siro* L.) auf (STEIN, 1986).

Die meisten tierischen Schädlinge sind in der Regel selbst nicht giftig (STÄHLIN, 1957). Sie beeinträchtigen jedoch Futterqualität und -haltbarkeit durch Veränderung der Inhaltsstoffe (Abnahme von Vitamin- und Aminosäuregehalt, Zunahme der freien Fettsäuren = Ranzigwerden), Reduktion der Keimfähigkeit, Geruchs- und Geschmacksabweichungen, Veränderungen von Aussehen (Fraßlöcher, Bohrgänge), Verschmutzungen mit Exkrementen, Sekreten, Larven- und Puppenhäuten, toten Tieren, Nagetierhaaren sowie durch Übertragung verschiedener Mikroorganismen wie Viren, Rickettsien, Bakterien, Pilzer, Protozoen, Wurmeiern und anderer tierischer Parasiten (STEIN, 1986).

Daneben können auch Allergisierungen und Resistenzminderungen bei sensibilisierten Individuen ausgelöst werden (STEIN, 1986).

Mit Milben stark verunreinigtes Futter verursacht nach STAHLIN (1957) "schwere Verdauungsstörungen, bei Hühnern häufig geringere Legetätigkeit, Magen- und Darmkatarrhe, Vergiftungs- und Lähmungserscheinungen, Hautausschläge und Entzündungen der Luftwege bis hin zum Massensterben bei Küken".

Zum Nachweis von Vorratsschädlingen sind die unterschiedlichsten Methoden empfohlen worden, die gebräuchlichsten sind das Absieben von Insekten mit Sieben unterschiedlicher Maschenweiten oder das Erkennen von Verunreinigungen oder Insektenbruchstücken unter dem Mikroskop (STEIN, 1986). STAHLIN (1957) empfiehlt zum Milbennachweis die Verwendung eines 14-feldrigen Trichinenkompressoriums, in dem eine bestimmte Menge Futter gepresst und anschließend die Anzahl Milben pro Feld bestimmt wird.

2.2.3. Quantitative Untersuchung des Futters

Eine Methode zur quantitativen Bestimmung der Samenanteile in einem Mischfutter ist notwendig, um einerseits dessen Eignung für die vom Hersteller angegebene Vogelart zu überprüfen und andererseits den Anteil ernährungsphysiologisch hochwertiger Bestandteile grob abschätzen zu können.

In der uns zugänglichen Literatur konnte nur eine Angabe dazu gefunden werden: DELPY (1980) beschreibt eine Methode, bei der 100 Gramm Futter abgewogen und anschließend auf einer hellen Unterlage mit der Hand nach Samenarten getrennt werden. Nach Abwiegen der Teilfraktionen kann der prozentuale Anteil der einzelnen Samenarten an der Gesamtmenge errechnet werden.

2.3. Chemische Untersuchung des Futters

Die chemische Untersuchung von Futtermitteln prüft neben dem Nährstoffgehalt die wertbestimmenden Bestandteile und damit den Nährwert der einzelnen Futterkomponenten (STÄHLIN, 1957).

2.3.1. Nährstoffgehalte der einzelnen Samenarten

Grundsätzlich unterscheidet man zwischen kohlenhydrat- und fettreichen Samenarten. Der Nährstoffgehalt der einzelnen Samenarten schwankt je nach Sorte, Anbauart, Düngung, Bodenart, Kulturzustand, Befall mit Krankheiten, Alter und Entwicklungszustand der Pflanzen zum Zeitpunkt der Ernte, Erntewitterung sowie Art und Dauer der Aufbewahrung (STÄHLIN, 1957).

In Tabelle II sind die Nährstoffgehalte der wichtigsten, in Vogelfutter vorkommenden Samenarten nach Angaben von STÄHLIN (1957), BECKER und NEHRING (1965), TOLLEFSON (1982), dem National Research Council (NRC) (1984) und AECKERLEIN (1986) zusammengefasst.

Angaben zum Mineralstoffgehalt (z. B. Calcium, Phosphor, Natrium), Vitamingehalt (z. B. Vitamine E, B-Komplex) und Aminosäuregehalt (z. B. Methionin, Cystin, Lysin) sind bei BECKER und NEHRING (1965) und beim NRC zu finden.

2.3.2. Wassergehalt

Für die Haltbarkeit von Körnerfrüchten ist der Wassergehalt entscheidend: nach HERTRAMPF (1984) soll er 13 bis 14 % nicht überschreiten, was jedoch für das Wachstum von Schimmelpilzen bereits ausreichend sein kann.

Bei Ölfrüchten soll der Wassergehalt bei 10 bis 12 % liegen, um die Lagerfähigkeit zu gewährleisten (STÄHLIN, 1957).

2.3.3. Fettkennzahlen

Zur Charakterisierung der Fette werden bestimmte Kennzahlen verwendet.

Die Verseifungszahl ist ein Maß für die mittlere Kettenlänge von Fettsäuren; sie ist umso höher, je kürzer die mittlere Kettenlänge der Fettsäuren ist.

Die Jodzahl gibt die Anzahl Doppelbindungen in einer bestimmten Gewichtsmenge Fett an; ermittelt wird sie durch den Verbrauch an Jod bei der Reaktion mit ungesättigten Fettsäuren.

In der Futtermittelverordnung ist die Anisidinzahl als Maßstab für Futterfette eingeführt. Für die zur Fütterung vorgesehenen Fette in Milchaustauschfutter wird eine Säurezahl von maximal 5 mg KOH/g Fett, eine Peroxidzahl von maximal 8 Milliäquivalenten peroxydisch gebundenen Sauerstoffs/kg Fett und eine Anisidinzahl von nicht über 25 gefordert (Anlage 2 der FMV). Ergebnisse und Erfahrungen mit der Methodik der Anisidinzahlbestimmung an Rohfettextrakten aus Körnermischfuttermitteln waren uns nicht zugänglich.

Als Kriterium für den Frischezustand von Fetten dienen nach MENKE und HUSS (1980) Säure- und Peroxidzahl, wobei aber keiner dieser Kennwerte für sich allein den Grad des autoxydativen Fettverderbs immer hinreichend genau charakterisiert.

Tab. II: Nährstoffgehalte verschiedener, häufig in Vogelfutter vorkommender Samenarten (in %)
(nach STÄHLIN, 1957; BECKER und NEHRING, 1965;
TOLLEFSON, 1982; NRC, 1984; AECKERLEIN, 1986)

SAMENART	TROCKEN-SUBSTANZ	ROH-PROTEIN	ROH-FETT	N-FREIE EXTRAKTSTOFFE	ROH-FASER	ROH-ASCHE
KOHLENHYDRATREICHE SAMEN						
Hirse	87,6-91,1	11,6-13,1	3,2- 4,3	59,7-62,3	4,3- 9,0	1,8- 3,8
Japanhirse	89,8	10,6	4,9	54,7	14,6	5,0
Kanariensamen	84,9-91,4	13,7-21,0	3,5- 8,8	37,2-59,2	8,2-21,3	2,7-10,0
Weizen	85,7-89,5	10,2-14,1	1,7- 2,1	60,7-71,9	1,8- 2,9	1,8- 1,9
Hafer	88,4-90,2	10,3-12,1	4,2- 4,8	40,0-59,6	10,1-11,9	2,9- 4,0
Nackthafer	87,9	11,3	5,7	56,3	2,6	2,0
Gerste	86,0-89,0	10,2-11,6	1,8- 1,9	54,7-66,4	4,5- 5,1	2,5- 2,9
Paddy-Reis	86,0-88,3	7,5- 8,6	1,8- 2,3	64,1-76,5	6,1-11,8	4,8- 5,3
Milokorn	87,6-89,4	10,2-12,1	2,1- 3,6	64,2-71,3	2,0- 2,4	1,4- 1,8
Mais	86,4-89,0	8,4- 9,9	3,8- 4,2	61,4-71,3	1,7- 2,5	1,3- 1,5
Buchweizen	86,2-88,0	10,8-12,3	2,2- 2,7	57,9-64,4	8,7-12,7	2,0- 2,5
Ebereschenbeere	93,0-95,4	4,6- 7,0	5,7- 7,2	51,7-64,1	7,4- 9,3	2,8- 5,0
FETTREICHE SAMEN						
Raps / Rübsen	88,0-92,7	19,5-20,4	37,8-45,0	15,9-18,0	6,0-10,3	3,6- 4,2
Leinsamen	88,9-92,9	22,1-24,3	32,4-36,5	22,1-24,8	5,5- 6,3	3,8- 4,6
Negersaat	93,0-93,3	17,9-22,0	38,5-43,2	12,4-19,3	11,9-14,4	3,5- 5,3
Sonnenblumenkern	90,4-93,6	15,2-18,4	25,9-31,8	17,4-18,8	21,3-29,0	3,0- 3,2
Mohnsamen	91,3-95,8	19,5-21,1	42,4-50,0	10,0-17,0	5,4- 5,6	6,8- 7,0
Hanf	91,0-91,3	18,2-21,5	30,4-32,6	15,9-21,1	15,0-18,8	4,2- 5,0
Sesam	94,5	20,5-21,1	46,8-47,2	15,0-18,6	5,1- 7,1	6,0- 6,5
Erdnuß, geschält	86,9-94,5	28,0-28,7	35,8-46,6	12,2-17,7	2,4- 5,5	2,3- 2,5
Sojabohne	89,3-91,3	35,7-37,4	17,0-18,3	26,3-27,5	3,9- 6,1	4,8- 6,0
Kürbiskern	91,9	18,4-30,3	24,7-38,5	9,7	18,1	2,4- 4,8
Salatsamen	92,8	28,8	35,8	16,1	8,0	4,2
Kardisaat	90,5	52,5	11,0	5,6	18,0	4,4
Fichtensamen	91,6	20,2	32,6	12,2	22,3	5,3
Perillasaat	94,6	21,5	43,4	11,3	13,9	4,4
Zirbelnuß (Trockensubstanz)		6,6-11,3	14,9-26,0	46,0	30,9	1,6

In der Literatur konnten für einige Samenarten die in Tabelle III aufgeführten Angaben über Verseifungs- und Jodzahl gefunden werden.

Tab. III: Jod- und Verseifungszahlen häufig in Vogelfutter vorkommender Samenarten in mg KOH/g Fett
(nach BECKER und NEHRING, 1965)

Samenart	Jodzahl	Verseifungszahl
KOHLLENHYDRATREICH		
Gerste	144	188
Weizen	96-113	165-183
Roggen	140	171
Hafer	104-105	190-195
Mais	117-123	188-193
Hirse	90-130	180-190
Sojabohne	124-133	188-197
FETTREICH		
Raps/Rübsen	94-106	167-181
Leinsamen	169-196	185-195
Hanf	140-172	190-194
Mohn	131-149	189-194
Sonnenblumenkerne	127-136	186-194
Sesam	103-112	187-195
Negersaat	126-129	189-198
Perillasaat	196-206	187-197

Die Peroxidzahl steigt zu Beginn der oxidativen Prozesse zwar an, fällt jedoch später durch den Zerfall der Peroxide wieder ab. Eine niedrige Peroxidzahl ist dann kein Hinweis auf ein frisches Fett (MENKE und HUSS, 1980).

Eine hohe Säurezahl besagt zunächst, daß in dem vorliegenden Fett hydrolytische Abbauprozesse abgelaufen sind. Besonders in Futtermitteln, die meistens Lipasen enthalten, ist stets mit einer gewissen Hydrolyse der Fette zu rechnen. Auch sind Fette mit erhöhten Fettsäuregehalten ernährungsphysiologisch unbedenklich, da im Verdauungstrakt ohnehin ein lipatischer Fettabbau erfolgt (WIESNER, 1970). Die Ergebnisse der Fettkennzahlbestimmung sind nur relativ zu den Ausgangswerten im frischen Körnerfutter der jeweiligen Art zu beurteilen. NIESAR (1961) stellt an Fette, die zur Fütterung verwendet werden, folgende absoluten Anforderungen: Peroxidzahl unter 10 Milliäquivalenten peroxydisch gebundenen Sauerstoffs/kg Fett, Säurezahl unter 20 mg KOH/g Fett. Allerdings sind keine Erfahrungen zu den betreffenden Werten im aus Körnerfutter für Vögel extrahierbaren Rohfett mitgeteilt. Untersuchungen an Getreideproben im Staatlichen Tierärztlichen Untersuchungsamt Aulendorf erbrachten aus Fettmaterial Peroxidzahlen von 7 bis 38 Milliäquivalenten peroxydisch gebundenen Sauerstoffs/kg Fett (UNGLAUB, 1987 unveröffentlicht).

Daneben stellt nach SPICHER (1973) die Säurezahl eines Futtermittels einen sehr empfindlichen Indikator für abgelaufene mikrobielle Prozesse dar. Bei "gesunden" Körnerfrüchten soll sie nach SPICHER (1973) in der Größenordnung von 10 mg KOH % (heute wird als gültige SI-Einheit mg KOH/g Fett verwendet, Anmerkung des Verfassers) liegen. LENGAUER und LEW (1981) setzen die Beanstandungsgrenze für Saatgetreide nach eigenen Untersuchungen auf 100 mg KOH % hinauf, da die besten untersuchten Weizenproben Fettsäurezahlen zwischen 30 und 50, die besten Haferproben Fettsäurezahlen zwischen 80 und 100 mg KOH % aufgewiesen hatten.

2.4. Frischekriterien

2.4.1. Keimfähigkeitsprobe

Nach SPICHER (1968) kann die Keimfähigkeit als allgemeines Merkmal für die Qualität von Getreide herangezogen werden. Für das Absterben des Keimlings nennt SPICHER (1968) in gewissen Fällen den Befall mit Lagerpilzen als alleinige Ursache, während in anderen Fällen Schimmelpilze zumindest indirekt Einfluß auf die Keimfähigkeit nehmen.

Allgemein läßt sich sagen, daß sich die Keimfähigkeit mit zunehmender Lagerzeit, steigendem Feuchtigkeitsgehalt und mit zunehmendem mikrobiellen Befall - insbesondere mit steigender Schimmelpilzkeimzahl - stetig vermindert (SPICHER, 1968).

Die Keimfähigkeit kann jedoch auch durch gezielte Behandlung zur Enzyminaktivierung in bestimmten Samen herabgesetzt sein, z. B. bei Toastung von Sojabohnen.

2.4.2. Weitere Haltbarkeitsproben

STÄHLIN (1957) beschreibt eine Haltbarkeitsprobe, bei der die Futterprobe in einem Becherglas mit abgekochtem Wasser übergossen wird und zugedeckt 24 Stunden lang bei Zimmertemperatur stehen bleibt. Nach Auszählung der Körner sollen bei guter lagerfähiger Ware höchstens 3 % der Körner in der Gesamtprobe schimmelig oder schleimig-schmierig sein.

Ein Schnelltest, bei dem vor allem fettreiche Samen wie Sonnenblumenkerne, Hanf, Negersaat, Leinsamen und Mohn auf ihre Frische geprüft werden können, wird in einem amerikanischen Buch für Nymphensittichzüchter erwähnt (STURMAN und SCHULTS, 1980). Dabei wird der Samen mit dem Daumen auf ein Stück Papier gepresst. Ein wirklich frischer Samen hinterläßt dann einen Ölfleck auf dem Papier.

2.5. Mikrobiologische Untersuchung des Futters

2.5.1. Bedeutung der mikrobiologischen Untersuchung

Die mikrobiologische Untersuchung von Futtermitteln ist schon seit langem ein wesentliches Teilgebiet der angewandten Mikrobiologie und ist neben der makroskopischen und chemischen Untersuchung ein wichtiger Bestandteil der Futtermittelanalytik (DIRKS, 1978).

Der allgemeine mikrobielle Status, das relative Vorkommen von Verderbniserregern und Toxinbildnern sowie auch das Vorhandensein von Krankheitserregern geben Aufschluß über die hygienische Beschaffenheit des Futters und damit über die Güte und Verwendbarkeit der untersuchten Produkte (SCHMIDT, 1968).

LEIMBECK (1981) fordert für die mikrobiologische Prüfung von Fertigfutter die Bestimmung der Gesamtkeimzahl aerober, vermehrungsfähiger Bakterien, Hefen und Schimmelpilze, die Differenzierung der vorwiegend isolierten Keime sowie Untersuchung auf Abwesenheit von Salmonellen, Anwesenheit von *Escherichia coli* und anderen Enterobacteriaceen, *Staphylococcus aureus* und *Pseudomonas aeruginosa* über Anreicherungsverfahren.

Zusätzliche Bedeutung erhält die Futtermittelmikrobiologie heutzutage dadurch, daß die Futterkomponenten aus aller Welt bezogen werden. Damit sind aufgrund langer Transportwege, Lagerzeiten und unterschiedlicher klimatischer Bedingungen häufig hygienische Risiken durch den Befall des Futters mit Mikroorganismen und deren Stoffwechselprodukten verbunden (DIRKS, 1978).

2.5.2. Keimstatus pflanzlicher Futtermittel

Die wichtigsten in pflanzlichen Futtermitteln vorkommenden Bakterien- und Pilzarten werden in den Tabellen IV und V aufgelistet.

Tab. IV: Die wichtigsten in pflanzlichen Futtermitteln vorkommenden
Bakterienarten
(nach SCHMIDT, 1974; GEDEK, 1974 unter Berücksichtigung der
Nomenklatur nach BERGEY)

Familie/ Gattung	Gram	Pathogen	Toxin- bildner	Verderbnis- erreger
MICROCOCCACEAE				
Micrococcus	+	-	-	+
STREPTOCOCCACEAE				
Streptococcus	+	-	-	-
Pediococcus	+	-	-	-
Leuconostoc	+	-	-	-
Aerococcus	+	-	-	+
LACTOBACILLACEAE				
Lactobacillus	+	-	-	-
BACILLACEAE				
Bacillus spp.	+	-	+/-	+
Clostridium	+	+	+/-	+
STREPTOMYCETACEAE				
Streptomyces	+	-	-	+
PSEUDOMONADACEAE				
Pseudomonas	-	-	+	+
Xanthomonas	-	-	-	+
ACHROMOBACTERIACEAE				
Flavobacterium	-	-	+/-	+
ENTEROBACTERIACEAE				
Escherichia	-	+/-	+	+
Salmonella	-	+	+	+
Proteus	-	-	-	+
Erwinia	-	-	-	-

Tab. V: Die wichtigsten in pflanzlichen Futtermitteln vorkommenden Pilzarten (nach SCHMIDT, 1974; GEDEK, 1974)

Klasse/ Gattung	Saprophyten		Toxin- bildner	Verderbnis- erreger
	ubiquitär	auf Pflz.		
DEUTEROMYCETES				
Aspergillus	+	-	+	+
Penicillium	+	-	+	+
Cladosporium	+	-	+	+
Alternaria	-	+	+	+
Fusarium	-	+	+	+
ZYGOMYCETES				
Mucor	+	-	+	+
Rhizopus	+	-	+	+

Pflanzliche Futtermittel weisen eine mehr oder weniger umfangreiche Belastung mit Mikroorganismen auf (SCHMIDT, 1974). Auch Schimmelpilzsporen kommen praktisch auf allen Futtermitteln beziehungsweise deren Ausgangsprodukten vor, da sie in Luft und Boden weit verbreitet sind (MÜLLER und THALER, 1979).

Als Hauptquellen für die Besiedlung oder Verunreinigung durch Keime nennt SCHMIDT (1968) "die Bodenmikroflora, die Mikroflora von Blatt-, Körner- und Samenoberflächen der Futterpflanzen, die lokalen Keimbiothope von Futterverarbeitungs- und Lagerstätten und die Intestinalflora von Mensch und Tier."

2.5.2.1. Nicht pathogene Keimarten

Auf pflanzlichen Rohfutterstoffen wie Getreide herrschen die Mikroorganismen der Blatt- und Bodenmikroflora ihrer Standorte vor (SCHMIDT, 1968).

Bei sachgemäßer Lagerung finden sich regelmäßig die sogenannten Gelbkeime aus den Gattungen *Flavobacterium*, *Xanthomonas* und *Erwinia* (GEDEK, 1974) und Vertreter der Schimmelpilzgattung *Alternaria* (SPICHER, 1968). Doch ändert sich die Zusammensetzung der Mikroflora von Futtermitteln während der Ernte beziehungsweise Gewinnung, Transport, Lagerung und Weiterverarbeitung (MÖLLER, 1973). Das Ausmaß der Keimanreicherung wird sowohl durch Umweltfaktoren, wie Temperatur, relative Luftfeuchtigkeit, Wassergehalt, pH-Wert und natürlich der Mikroflora des Substrates als auch durch das jeweilige Nährstoffangebot bestimmt (GEDEK, 1974).

Der Keimgehalt soll jedoch so gering wie möglich sein, da auch nicht pathogene Keimarten zu einer Verminderung des Nährstoffgehaltes in Futtermitteln durch Substratabbau und zu Veränderungen der Darmschleimhaut des Tieres mit nachfolgender Verminderung der Verdauungs- und Resorptionsleistung und vielfach zu einer Störung der autochthonen Darmflora führen können (LEIBETSEDER, 1981).

Die Wahrscheinlichkeit einer gesundheitsschädlichen Beschaffenheit von keimhaltigen Futtermitteln wächst erst mit der Zunahme substratabbauender und toxinproduzierender Arten von Bakterien und Pilzen (DIRKS, 1978).

Bei optimaler Lagerung in kühlen, gut belüfteten Räumen steigt die Keimzahl von Pilzen in der Regel nicht über 1000/g Futtermischung und von Bakterien nicht über 10 000/g Futtermischung an, vorausgesetzt, daß zur Herstellung nur einwandfreie, nicht überlagerte Rohstoffkomponenten Verwendung fanden. Lange Transportwege und unsachgemäße Lagerung führen zu um mehrere Zehnerpotenzen höheren Keimzahlen, die hygienisch und im Hinblick auf die Entstehung von Krankheiten nicht mehr als unbedenklich anzusehen sind (GEDEK, 1974).

2.5.2.2. Pathogene Keimarten

Verunreinigtes Futter ist häufig die Ursache von schweren Infektionskrankheiten bei Vögeln. Salmonellen, Pasteurellen und Yersinien werden nach ARNALL und KEYMER (1975), POMEROY (1984) und RHOADES und RIMLER (1984) vor allem durch mit Nagetier- oder Wildvogelkot verunreinigtes Futter übertragen, aber auch Insekten sind wichtige mechanische Vektoren. Weiterhin muß auch an die Möglichkeit einer aerogenen Übertragung von Krankheitserregern wie z.B. Chlamydien auf Futter gedacht werden, wenn loses Futter im selben Raum mit Tieren zum Verkauf angeboten wird.

GREENHAM et al. (1987) isolierten aus Leber und Milz eines toten Kanarienvogels α -Toxin bildende Clostridium perfringens-Stämme, die auch in Proben von Kanariensaat, Muschelkalk und eihaltigem Konditionsfutter für Kanarienvögel gefunden wurden. Auch aus Pelletfutter für Hühner wurde der Erreger isoliert. Diese Ergebnisse zeigen, daß Clostridien-sporen bei der Pelletierung von Futter nicht immer in ausreichendem Maße inaktiviert werden und daß bei Enteritiden und plötzlichen Todesfällen auch an einen Befall des Futters mit α -Toxin bildenden Clostridien zu denken ist.

Deshalb ist eine sorgfältige Auswahl und Lagerung der Rohmaterialien von Vogelfutter eine wesentliche Voraussetzung, um die zuvor genannten Krankheiten zu verhindern.

Abgepacktes Ziervogelfutter muß so gelagert werden, daß es nicht nachträglich zur frühzeitigen Verderbnis oder Verunreinigung mit Kot von Nagetieren oder Wildvögeln kommt, das heißt kühl, trocken, luftig, dunkel, ungeziefersicher und kurz (LOHR, 1985).

Daneben muß auch an das Vorhandensein von Bakterien- und Pilztoxinen in Futtermitteln gedacht werden (THALMANN, 1974). Bei den Bakterientoxinen wird zweckmäßigerweise zwischen Bakterien, die Toxine in Futtermitteln bilden, und solchen, die nach Übertragung mit Futtermitteln auf Tiere diese infizieren und im allgemeinen erst im Tierkörper

Toxine bilden, unterschieden. Zur ersten Gruppe rechnen *Clostridium botulinum* (vor allem in Silage, Trockenschnitzeln, Milchaustauscher), *Staphylococcus aureus* (in Milch und Milchprodukten) und *Bacillus cereus* (in feuchten, eiweißreichen Futtermitteln), zur zweiten Gruppe gehören u. a. Salmonellen, *Escherichia coli* und *Listeria monocytogenes* (THALMANN, 1974). Pilztoxine werden in Abschnitt 2.6.2. gesondert besprochen.

2.5.3. Mikrobiologische Untersuchungstechniken für Futtermittel

2.5.3.1. Standard-Methode der Internationalen Gesellschaft für Getreidechemie (ICC)

Die von der ICC als Standardmethode Nr. 133 (1980) für die Keimzahlbestimmung und als Standard Nr. 134 (1980) für die Bestimmung der Schimmelpilzzahl bei der Untersuchung von Futtermitteln und Futtergetreide veröffentlichten Untersuchungstechniken sind mit ihren genauen Arbeitsvorschriften bei SCHMIDT et al. (1981) angegeben.

Das Prinzip dieser Methode besteht im Kochschen Plattengußverfahren, bei dem die zu untersuchende Probe in einer sterilen, gepufferten, physiologischen Lösung suspendiert wird, um die an den Futtermittelpartikeln haftenden Keime in der Lösung zu verteilen.

Von der Ausgangssuspension stellt man eine dezimale Verdünnungsreihe her, wonach aus jeder Verdünnungsstufe jeweils gleiche Mengen in keimfreie Petrischalen einpipettiert und mit einem verflüssigten, temperierten Nährboden vermischt werden. Nach dem Erstarren des Nähragars sind die einzelnen Keime im Nährboden fixiert und können während der anschließenden Bebrütung zu zählbaren Kolonien heranwachsen.

Mit dieser Methode kann die Keimzahl aerober sowie fakultativ anaerober, mesophiler Bakterien und von Schimmelpilzen und Hefen bei Einzel- und Mischfuttermitteln sowie pflanzlichen und tierischen Rohstoffen für die Futterherstellung bestimmt werden.

2.5.3.2. Methoden anderer Autoren

SCHMIDT (1963) fordert eine einheitliche Durchführung des Plattengußverfahrens mit einer Standardisierung der technischen und biologischen Voraussetzungen (Einwaagemenge, Schütteldauer, Petrischalen, Pipetten, Nährböden und -zusätze, Bebrütungsdauer und -temperatur). Insbesondere weist er auf die gegenseitige Konkurrenzhemmung der vorhandenen wachsenden Keime im Hinblick auf Koloniezahl, Ausprägung des Koloniehabitus und der Koloniegröße hin. Er zeigt, daß sich manche konkurrenzempfindlichen Keime erst dann entwickeln, wenn die Hemmwirkung infolge gegenseitiger Konkurrenz mit steigender Verdünnung und abnehmender Populationsdichte die wachstumshemmende Grenze unterschreitet. Deshalb wird auf sehr dicht besiedelten Platten das Wachstum zahlreicher Keime unterdrückt, was zu einem hohen Unsicherheitsfaktor bei der Feststellung der Keimzahl führt.

HÖRTER (1968) sowie GEDEK (1974) empfehlen für die Durchführung der Bakterien- und Pilzzahlbestimmung die Verwendung des Spatelverfahrens, bei dem eine bestimmte Menge (0,1 ml) Futtermittelsuspension auf feste Nährböden aufpipettiert und mit einem sterilen Spatel ausgespatelt wird. Hierbei sind die ermittelten Keimzahlen im Vergleich zur Gußplattenmethode nach KOCH deutlich höher. Weitere Vorteile sind die kürzere Inkubationszeit, die leichtere Zählbarkeit der Kolonien und der geringere Arbeitsaufwand (HÖRTER und KLEIN, 1969).

HÖRTER und KLEIN (1969) untersuchen den Einfluß verschiedener Verdünnungs- und Suspensionsmedien sowie Kulturverfahren auf die Zahl der nachweisbaren Keime in pelletierten Futtermitteln. Sie empfehlen die Verwendung von 0,85 %iger NaCl-Lösung mit Zusatz von 0,1 % Pepton und das Spatelverfahren.

WERNERY und HILLIGER (1972) beschäftigen sich mit dem Einfluß der Schüttel- und Absetzzeit auf die Zahl der nachweisbaren Keime bei mehrlartigen Futtermitteln. Sie kommen zu dem Ergebnis, daß die Schüttelzeit bzw. die Verweilzeit der Futtermittel in der Suspensionsflüssigkeit mindestens 60 Minuten betragen soll.

BIELAN (1973) untersucht, wie sich das Aufschwemmen und Stehenlassen von Futterproben auf die nachweisbare Keimzahl auswirkt. Er weist nach, daß durch eine Stehzeit von zwei Stunden der quantitative Keimnachweis wesentlich verbessert wird.

DIRKS (1978) schlägt für die Keimzahlbestimmung einen doppelten Ansatz der Futterproben vor, aus denen zwei parallele Verdünnungsreihen hergestellt werden. Für die Bakterienzahlbestimmung verwendet er das Gußplattenverfahren, für die Pilzzählung das Spatelverfahren.

MÜLLER und THALER (1979) erwähnen neben der Pilzzahlbestimmung für den Pilznachweis in Futtermitteln chemisch-analytische Verfahren, bei denen der Chitin- bzw. Ergosteringehalt der Pilzzellwand ermittelt wird. LEW (1981) stellt heraus, daß durch den Anstieg des Ergosteringehaltes in der Futtermittelprobe das Pilzwachstum um ein Vielfaches genauer angezeigt wird als durch die Zunahme des Chitins, zumal die Chitinbestimmung sehr viel umständlicher ist und

das Vorhandensein von Insekten oder Milben mit einer Chitinkutikula eine massive Verpilzung des Futters vortäuschen können.

Ein weiteres Verfahren zur Überprüfung eines Futtermittels auf das Vorhandensein von Pilzmycel ist bei Körnern und Samen die Bestimmung der Infektionsrate (MÜLLER und THALER, 1979). Dabei wird nach Oberflächendesinfektion des Futters mit Natriumhypochlorit-Lösung eine bestimmte Anzahl Körner auf einen Nährboden ausgelegt und sieben Tage lang bebrütet. Danach zählt man diejenigen Körner und Samen aus, die verpilzt sind, und kann somit den Prozentsatz der Körner bzw. Samen erfassen, die im Inneren entwicklungsfähiges vegetatives Material enthalten hatten.

2.5.3.3. Nachweisverfahren pathogener Keimarten

Während sich Keimarten wie Pasteurellen oder Salmonellen in größerer Zahl mit den üblichen Kulturverfahren (Gassner-, Blutagarplatten) nachweisen lassen, sind zum Nachweis von Yersinien oder Salmonellen in geringer Zahl besondere Anreicherungsverfahren notwendig.

DIRKS (1978) verwendet zum Salmonellennachweis nach Anreicherung des Futters in Natriumselenit- oder Kaliumtetrathionatbouillon die Indikatorlactosenährböden Endo-Agar (Merck 4043), Gassner-Agar und Brilliantgrün-Phenolrot-Lactose-Agar.

GEDEK (1974) beschreibt die Verwendung von Selenit-Cystin-Bouillon nach TOMPKIN und KNEPER (Merck 7709) mit 0,6 %igem Tergitol als Anreicherungsmedium und zur Isolierung und Differenzierung Kristallviolett-Neutralrot-Galle-Glucose-Agar (Merck 10275).

RHOADES und RIMLER (1984) machen zu den Wachstumsbedingungen für *Yersinia pseudotuberculosis* folgende Angaben:

Wachstum erfolgt in An- oder Abwesenheit von Sauerstoff bei einer optimalen Temperatur von 30°C. Auf Agarplatten wachsen sie in glatten bis schleimigen, granulierten, durchscheinenden, graugelben Kolonien mit Durchmessern von 0,5 bis 1 mm. Zum Versiniennachweis aus Futter werden auch nach der Anreicherung der Probe in Versinia-Anreicherungsbouillon (Merck 15209) Versinien-Selektivagarplatten nach WAUTERS (Merck 11443) oder SCHIEMANN (Merck 16434) empfohlen. Nach GERLACH (1979) eignen sich jedoch die genannten Verfahren nicht zum Nachweis aviärer Versinienstämme aus Kotproben. Sie empfiehlt eine mindestens einwöchige Kälteanreicherung in Traubenzuckerbouillon und anschließend einen Ausstrich auf 10 %igen Rinderblutagarplatten mit Zusatz von 0,2 % Tween 80 und 50 ppm Kaliumtellurit. Die Platten werden bei 37°C bebrütet, die Versinien treten dann als kleine, schleimig aussehende, durch Reduktion des Tellurits schwarz gefärbte Kolonien auf. Verdächtige Kolonien sind nach den üblichen Verfahren zu differenzieren.

2.6. Mykotoxikologische Untersuchung des Futters

2.6.1. Allgemeine Eigenschaften von Mykotoxinen

Nach FRANK (1970) versteht man unter dem Begriff Mykotoxine "Stoffwechselprodukte von manchen Ascomyceten oder imperfekten Pilzen, die den Produzenten selbst nicht schädigen, jedoch in sehr kleinen Mengen für Mensch, Tier und Pflanze giftig sind". Ihre Bildung ist abhängig von Faktoren wie Art und Wassergehalt des Substrates, Temperatur, Luftsauerstoff und Vorkommen konkurrierender Pilzarten (MÖLLER, 1973; THALMANN, 1974).

Obwohl über Mykotoxikosen schon seit langem berichtet wird - Mutterkornvergiftungen bei Mensch und Tier sind seit über 5000 Jahren bekannt (VELTMANN, 1984) - waren dies doch sel-

tene Fälle. In jüngster Zeit sind durch die Änderung der Agrartechnik (Monokulturen, Ausweitung des Anbaugebietes bestimmter Getreidesorten in nur bedingt dafür geeigneten Klimazonen, Art der Ernte, Trocknung und Lagerung) Leistungsminderungen, Massenerkrankungen und Verluste in der Tierproduktion infolge von Mykotoxikosen häufiger geworden (LEIBETSEDER, 1981).

Mittlerweile sind über 200 Mykotoxine identifiziert worden, die von ca. 300 Pilzarten gebildet werden (GEDEK, 1980). Erst die Hälfte davon ist chemisch eindeutig definiert, und nur 13 solcher toxischer Produkte kamen bisher bei natürlich vorkommendem Mykotoxikosen bei Tieren zur Beobachtung (SCHUH, 1981). Meist sind es relativ niedermolekulare Verbindungen (Molekulargewicht 300-400) mit aromatischer, selten aliphatischer chemischer Struktur aus sehr unterschiedlichen Stoffklassen wie Cumarinderivaten, Sesquiterpenoiden, Anthrachinonen, Piperazinen, Pyranen, Alkaloiden, Steroiden u. a. (GEDEK, 1980). Aufgrund ihrer niedermolekularen Struktur lösen sie keine Antikörper-Bildung zum Schutz des Organismus aus (HERTRAMPF, 1984) und sind weitgehend unempfindlich gegenüber Umwelteinflüssen (BAUER, 1982).

Die Tabelle VI enthält eine Übersicht der wichtigsten Mykotoxinbildner, wobei zwischen Feldpilzen, die Getreide schon während der Wachstums- und Reifungsphase besiedeln, und Lagerpilzen, die Futtermittel erst während der Lagerung befallen, unterschieden wird.

2.6.2. Wirkungen der Mykotoxine bei Vögeln

Mykotoxine greifen im Organismus an sehr verschiedenen Systemen an und verursachen dort entsprechend ihrer chemischen Struktur, der befallenen Tierart und deren Rasse, Al-

ter und Ernährungsweise sowie auch der Art und Weise der Toxinaufnahme die unterschiedlichsten Wirkungen (BÖSENBERG, 1970; GEDEK, 1980).

Die wichtigsten schädigenden Eigenschaften der Mykotoxine sind nach GEDEK (1980), HERTRAMPF (1981), BAUER (1982) und

Tab. VI: Übersicht der wichtigsten Mykotoxin bildenden Pilzarten
(nach MEYER und LEISTNER, 1969; SPICHER, 1981; BAUER, 1982)

Pilzart	Produziertes Mykotoxin	Vorkommen in *
LACERPILZE		
Aspergillus flavus	Aflatoxin B ₁ , B ₂ Aflatoxin G ₁ , G ₂	W,G,H,M,R,Hi E,S,M,Se,Mi
Aspergillus parasiticus		
Aspergillus versicolor	Sterigmatocystin	W,R
Aspergillus fumigatus	Verruculogen	W,G
Aspergillus ochraceus	Ochratoxin A	W,Ro,G,H,M,R Leg,Hi,S
Penicillium verrucosum var. verrucosum		
Penicillium verrucosum var. cyclopium	Penicillinsäure, Citrinin	G,R
Penicillium rubrum	Rubratoxin	W,R
Stachybotryx alternans	Stachybotryotoxin	G,R,H,W
FELDPILZE		
Fusarium graminearum	Zearalenon	W,G,H,M,R,Mi
Fusarium roseum	Trichothecene Diacetoxyscirpenol T 2-Toxin	W,R,G,M,Hi
Fusarium poae		
Fusarium tricinctum		

* Abkürzungen:

E = Erdnuß	Mi = Milokorn
G = Gerste	R = Reis
H = Hafer	Ro = Roggen
Hi = Hirse	S = Sojabohne
Leg = Leguminosen	Se = Sesam
M = Mais	W = Weizen

JONES (1987) folgende: hepato-, nephro-, neuro-, kardio-, myo- und dermatotoxisch, kanzerogen, teratogen, emetisch, Östrogen, hämorrhagisch und immunsuppressiv.

Nach PALYUSIK (1977) und SCHUH (1981) können bei Mykotoxikosen drei Verlaufsformen unterschieden werden:

Akute primäre Mykotoxikosen treten bei kurzfristiger Aufnahme hoher und mittlerer Toxinkonzentrationen auf und verursachen Symptome wie Hepatitis, Hämorrhagien, Nephritis, Nekrosen der Schleimhäute des Verdauungstraktes und Durchfälle.

Chronische primäre Mykotoxikosen sind Folge der Aufnahme niedriger Toxindosen über einen längeren Zeitraum. Klinische Erscheinungen äußern sich in langsamen Wachstumsraten und verminderter Futterverwertung.

Sekundäre Mykotoxikosen werden durch Aufnahme von Mykotoxinkonzentrationen ohne klinisch erkennbare Symptomatik verursacht. Durch Herabsetzung der natürlichen Resistenzmechanismen infolge Hemmung der Proteinsynthese kommt es jedoch zur Prädisposition gegenüber infektiösen Erkrankungen.

THALMANN (1974) teilt die Mykotoxine in drei unterschiedliche Toxizitätsgrade ein, wobei Aflatoxine, Ochratoxine, Zearalenon, T 2-Toxin und Diacetoxyscirpenol eine hohe Toxizität besitzen, Citrinin, Penicillinsäure und Sterigmatocystin mittelgradig toxisch sind und das antibiotisch wirksame Griseofulvin nur gering toxisch wirkt.

Aflatoxine verursachen durch ihre Reaktion mit der DNA im Zellkern irreversible Veränderungen der Zellfunktion, was sich bei Vögeln in verschiedenartigen Leberveränderungen, wie Leberzelldegeneration mit anschließender Zirrhose und vor allem in charakteristischen Gallengangsproliferationen äußert (BAUER, 1980).

Die gefährlichste Eigenschaft von Aflatoxinen ist ihre hohe Kanzerogenität, die weniger für die Tiere selbst bedrohlich

ist, als vielmehr für den Menschen durch die in tierischen Produkten und Erzeugnissen (Eier, Fleisch) verbliebenen Mykotoxinrückstände (BAUER, 1982).

Durch verstärkte Stickstoffausscheidung über die Nieren kommt es bei Enten zu einer schlechteren Eiweißverwertung durch Verabreichung aflatoxinhaltigen Futters (OSTROWSKI-MEISSNER, 1983).

Weiterhin schädigen Aflatoxine das Immunsystem (PIER, 1973), so daß die Antikörperproduktion verzögert und die Stimulierbarkeit von B- und T-Lymphozyten verringert wird. RUFF und WYATT (1978) berichten über weitaus geringere Gewichtszunahmen bei Masthähnchen, die zugleich Mykotoxine erhielten und mit Kokzidien infiziert waren, gegenüber den Tieren, die nur Mykotoxine erhalten hatten oder nur mit Kokzidien infiziert waren. GIAMBRONE et al. (1978) zeigen, daß mit Aflatoxin dotierte Küken weitaus schwerere Symptome der Infektiösen Bursitis aufweisen als Tiere ohne Aflatoxingabe. Durch Abnahme der Phagozytoseaktivität der Leukozyten kommt es zum sogenannten "lazy leucocyte syndrome", bei dem die von den geschädigten Phagozyten aufgenommenen Bakterien nicht in der üblichen Weise abgetötet werden und ihre spontane und chemotaktische Bewegungsfähigkeit beeinträchtigt ist (HAMILTON, 1984).

HUFF (1977) erwähnt eine Senkung des Plasmacalciumspiegels mit erhöhter Knochenbrüchigkeit und gummiartiger Konsistenz der Knochen bei jungen Broilern als Folge von Aflatoxinvergiftungen.

FERRANDO et al. (1975) berichten über eine Erhöhung der toxischen Wirkungen von Aflatoxin B₁ bei Enten mit gleichzeitigem Vitamin-D₃-Mangel.

HAMILTON (1984) sieht einen Zusammenhang zwischen Aflatoxinen und dem Malabsorptionssyndrom des Mastgeflügels, das auch als "runting/stunting syndrome" oder bei gleichzeitig vorliegenden Befiederungsstörungen als "Helikopterkrankheit" bezeichnet wird. Allerdings sind aus Masthähnchen mit dieser Erkrankung auch eine Reihe von Viren isoliert wor-

den, deren ätiologische Bedeutung nach DECAESSTECKER et al. (1986) aber noch fraglich ist. Diese Autoren konnten das Malabsorptionssyndrom zumindest teilweise auch durch künstliche Infektion mit einem Entero-like Virus reproduzieren. BASSIR und ADEKUNLE (1970) beobachteten bei White Rocks-Hühnerembryonen die teratogene Wirkung von Aflatoxin B₁. Sie stellen bei ihnen hauptsächlich Mißbildungen des Bewegungsapparates fest.

Sterigmatocystin ist hepatokarzinogen und verursacht eine Reihe von Hautläsionen einschließlich Plattenepithelkarzinomen (PURCHASE und VAN DER WATT, 1973).

Ochratoxine rufen bei Vögeln Diarrhoe und Hämorrhagien in Leber, Niere und Muskelmagen hervor (HARWIG, 1974). Entenküken entwickeln nach Ochratoxin A-Verabreichung Leberveränderungen, die durch Schwellung und strukturelle Veränderungen der Mitochondrien, morphologische Änderungen im Endoplasmatischen Retikulum und fettige Infiltration der Leberzellen gekennzeichnet sind (THERON et al., 1966). Bei Hühnern findet man Exsikkose, Viszeralgicht, Schwellung der Epithelien und Dilatation der proximalen Tubuli in den Nieren (PECKHAM et al., 1971); daneben kommt es zur Abnahme der Legetätigkeit, zur deutlichen Zunahme des Knickeieranteils und zum Anstieg des Serum-Harnsäurespiegels (PAGE et al., 1980).

Nach HAMILTON (1984) existiert bei geschlachteten Masthähnchen eine erhöhte Neigung zu Dickdarmwandrupturen infolge Abnahme des Kollagengehaltes in den Darmwänden als Folge von Ochratoxinvergiftungen.

DWIVEDI und BURNS (1985) berichten über immunsuppressive Wirkungen von Ochratoxin A auf junge Mastputen. Es kommt zu Wachstumsverzögerung und zur Rückbildung von Thymus und Bursa Fabricii.

Citrinin ruft nach BROWN et al. (1985) allein und in Kombination mit Ochratoxin A bei Legehennen Veränderungen in der Ultrastruktur der Niere hervor.

Nach WILSON et al. (1977) ist Penicillinsäure ein karzinogen wirksames Mykotoxin.

Rubrattoxine lösen bei Hühnern Hämorrhagien und Stauungen in der Muskulatur von Brust und Beinen sowie in Lunge, Nieren, Milz, Dünn- und Blinddarm aus (FORGACS et al., 1958).

Stachybotryotoxinvergiftungen bei Geflügel zeigen sich in Form von Entzündungen und Nekrosen im Bereich der Schnabel- und Kropfschleimhaut, im Magen und Darmkanal. Leber-, Nieren- und Myokarddegenerationen sowie Blutungen in Haut und Unterhaut sind ebenfalls häufig zu beobachten (HINTIKKA, 1977).

Fusarientoxine, die aufgrund ihrer Wachstumsbedingungen auch häufig in heimischem Getreide vorkommen (BAUER und GEDEK, 1978), werden in zwei große Gruppen unterteilt, nämlich das östrogen wirksame Zearalenon und die dermatotoxischen Trichothecene.

Zearalenon verursacht nach MÜLLER (1978) ab einem Rationsgehalt von 300 mg/kg das Krankheitsbild des Hyperöstrogenismus, was sich bei Truthahnküken im Anschwellen der Kloake, Zunahme des Stirnzapfengewichtes und Vergrößerung von Bursa Fabricii und Eileiter bis hin zum Kloakenprolaps äußern kann. Beim Ganter werden Libido und Spermiogenese beeinträchtigt, bei Legegänsen ist die Fertilität erniedrigt (MIROCHA et al., 1971). BOCK et al. (1986) vermuten bei Broilerzuchttieren eine Beteiligung von Zearalenon kontaminiertem Futter an Salpingitiden.

GEDEK et al. (1978) und KÖHLER et al. (1978) berichten über rachitische Veränderungen bei Mastbroйлern, die auf mit Fusarien verunreinigtes Futter zurückgeführt wurden. Es kam

zu mangelhaftem Knorpelaufbau, ungenügender Mineralisation von Spongiosa und Kompakta, Ausbildung von Fasermark und teilweise granulomartiger Vermehrung der Osteoklasten.

Trichothecene rufen Nekrosen an den mit ihnen in Berührung gekommenen Haut- und Schleimhautoberflächen hervor, greifen nach ihrer Resorption den Blutbildungsapparat an und haben auch eine emetische Wirkung (PALYUSIK, 1977).

Diacetoxyscirpenol und T 2-Toxin werden immunsuppressive Wirkungen zugeschrieben, was sich in reduziertem Thymusgewicht, Knochenmarkshyperplasie, Hemmung der Antikörperproduktion, Hemmung der Stimulierbarkeit von B- und T-Lymphozyten und Leukopenie äußert (WISKOTT, 1978).

JONES (1987) faßt die bei Geflügel nach Trichothecenverabreichung auftretenden unspezifischen Veränderungen zusammen: die Tiere zeigen schwarze bis dunkelgrüne Durchfälle, Befiederungsstörungen, Gewichtsverluste und abnehmende Leistungsfähigkeit.

Verruculogen ist ein Tremor verursachendes Mykotoxin. Nach COLE (1972) sind neben Lautüberempfindlichkeit vor allem Tetanien, Spasmen und Ataxien wichtige klinische Zeichen einer Verruculogenvergiftung. MACMILLAN et al. (1976) berichten über Ataxien, Starre und völliges Fehlen der Muskelkoordination.

Nach BAUER (1982) können Hinweise auf das Vorliegen einer Mykotoxikose sein: offensichtliche Krankheitsursachen sind nicht auszumachen; obwohl mehrere Tiere im Bestand erkrankt sind, ist die Krankheit nicht übertragbar; Behandlungsversuche mit Antibiotica oder Vitaminen bleiben erfolglos; erkennbarer Zusammenhang zwischen Erkrankung und Fütterung; Zeichen offensichtlicher Verschimmelung des Futters.

2.6.3. Nachweisverfahren für Mykotoxine

Zum Mykotoxinnachweis in Futtermitteln bieten sich zwei grundsätzlich verschiedene Verfahren an: die physikalisch-chemische Bestimmung und biologische Methoden (GEDEK, 1980a).

Auch erschwert die inhomogene Verteilung von Toxinen infolge von Nesterbildung der Schimmelpilze in Futtermitteln deren Nachweis. Bei der gesetzlichen Festsetzung der Höchstgehalte für Aflatoxin B₁ wurde in erster Linie die Nachweisgrenze der Analysenmethode zugrundegelegt und nicht die mögliche Gesundheitsschädlichkeit schon durch Aufnahme geringster Mykotoxinmengen, wie sie durch GEDEK und KAHLAU (1975) nachgewiesen wurden (BAUER und GEDEK, 1978).

2.6.3.1. Physikalisch-chemischer Nachweis von Mykotoxinen

Allen derartigen Methoden haftet der Nachteil an, daß sie nur solche Toxine erfassen können, zu denen Referenzsubstanzen erhältlich sind (GEDEK, 1980a). Nicht berücksichtigt sind dann immer noch mögliche toxische Umsetzungsprodukte, die bei der technologischen Aufbereitung mykotoxinhaltiger Futtermittel entstehen können.

Ein weit verbreitetes Verfahren in der Routinediagnostik stellt die Dünnschichtchromatographie dar. Dabei werden Futtermittel mit organischen Lösungsmitteln extrahiert und durch flüssig-flüssig Trennung, Präzipitation, Dialyse oder Säulenchromatographie gereinigt (BAUER, 1980). Nach Auftrennen der gereinigten Extrakte auf mit Kieselgel beschichteten Glasplatten in speziellen Fließmitteln können Mykotoxine entweder an ihrem charakteristischen R_f-Wert oder am Fluoreszierungsvermögen erkannt werden (PALYUSIK, 1977; BAUER, 1980).

Die Nachweisempfindlichkeit liegt im Bereich von 20 bis 50 µg/kg (= ppb), bei Aflatoxinen sogar bei 1 µg/kg (GEDEK, 1980a). Der Vorteil dieser Methode liegt im relativ gerin-

gen technischen Aufwand (SCHULTZ, 1976). Ungünstig bei diesem Verfahren ist jedoch, daß eine Reihe von Substanzen in manchen Futtermittelextrakten das Vorhandensein von Mykotoxinen vortäuschen können und zu Fehlbeurteilungen bis 100 % führen (GEDEK, 1972).

Ein von RANFFT (1974) beschriebener Schnelltest zur qualitativen Analyse von Futtermitteln auf Aflatoxine gestattet einen einfachen und schnellen Nachweis in einer Vielzahl von Einzel- und Mischfuttermitteln. Dabei wird das Aflatoxin aus dem Futtermittel mit wässrigem Acetonitril extrahiert, ein Großteil der Störsubstanzen mit Bleiacetat ausgefällt und das Aflatoxin mit Benzol ausgeschüttelt. Nach säulenchromatographischer Reinigung auf Aluminiumoxyd und Kieselgel kann das Aflatoxin aufgrund seiner Fluoreszenz unter UV-Bestrahlung auf der Säule identifiziert werden.

SCHWEIGHARDT und LEIBETSEDER (1981) haben Nachweismethoden mittels Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC) für Aflatoxin B₁, B₂, G₁, G₂, Fusarientoxine und Ochratoxin A entwickelt. Für diese Verfahren ist jedoch ein großer und teurer apparativer Aufwand notwendig.

Ein ausführlicher Vergleich der Nachweisgrenzen unterschiedlicher physikalisch-chemischer Methoden zur Multimykotoxinbestimmung findet sich bei BAUER (1980).

2.6.3.2. Biologischer Nachweis von Mykotoxinen

Auf biologische Verfahren ist man in der Diagnostik solcher Mykotoxine angewiesen, für die noch keine dünn-schichtchromatographischen Verfahren ausgearbeitet sind, bei denen aufgrund fehlender Referenzsubstanzen der Dünnschichtchromatographienachweis wenig aussagekräftig ist, bei denen eine Interferenz mit im gleichen Bereich fluoreszierenden

Stoffen anderer Art nicht auszuschließen ist oder nur bei Vorhandensein großer Mengen Toxins nachweisbar sind (GEDEK, 1980a).

Sowohl Vertebraten (Embryonen, kleine Nager, Eintagsentenküken u.a.) als auch wirbellose Tiere, Pflanzen, Bakterien, Algen, Hefen und Protozoen sind auf ihre Eignung als biologische Objekte für den Mykotoxinnachweis überprüft worden (BAUER, 1980).

2.6.3.2.1. Hühnerembryotest

In diesem von VERRETT et al. (1964) entwickelten und von BEHRINGER (1972) für den Mykotoxinnachweis überprüften Verfahren werden gereinigte Futtermittelextrakte in die Luftkammern befruchteter Hühnereier injiziert und bis zum Schlupftermin im Brutschrank aufbewahrt. Die Auswertung erfolgt durch Vergleich der Absterbe- bzw. Mißbildungsrate der mit Futtermittelextrakt beimpften Eier mit zur Kontrolle mit Aqua dest. beimpften Eiern.

Der Vorteil der Methode liegt in der ganzjährigen Verfügbarkeit der Testobjekte, nachteilig auf die praktische Anwendbarkeit wirkt sich jedoch die lange Versuchsdauer aus (BEHRINGER, 1972).

Die Nachweisempfindlichkeit liegt nach BEHRINGER (1972) für Aflatoxin B₁ bei 0,01 ppm; für Diacetoxyscirpenol bei 0,1 ppm, für Sterigmatocystin bei 0,2 ppm und bei Ochratoxin A bei 2 ppm (= mg/kg).

2.6.3.2.2. Zell- und Organkulturen

GEDEK (1972) verwendet zur Feststellung der zellzerstörenden Wirkung (LC₅₀) von Mykotoxinen Nierenzellkulturen von Kälbern, da sich diese in der Ausbildung lückenloser Monolayer besser standardisieren lassen als z.B. Hühnerembryonalzellkulturen.

48 Stunden nach Beimpfung der Zellkulturen mit Probenextrakt wird der Prozentsatz der durch die Toxine zerstörten Zellen ermittelt. Die Zellkultur zeigt ebenso wie der Nachweis mit Hühnerembryonen keine Toxinspezifität.

WERMTER (1980) überprüfte die Eignung verschiedener Zellarten (embryonale Rinderhoden und -nieren, sowie Hundenieren und die Zelllinien MDCK und AUBEK) auf ihre Eignung für den Fusariennachweis. Nach seinen Angaben reagiert die MDCK-Zelllinie am empfindlichsten auf Fusarientoxine.

Vorteil der Zellkultur ist die schnelle Ablesbarkeit nach 48 Stunden, nachteilig ist aber die geringe Empfindlichkeit für fast alle Mykotoxine im Vergleich zum Hühnerembryotest.

Zum Nachweis von Aflatoxin B₁ wird von COLWELL et al. (1973) der Einsatz von Trachealkulturen beschrieben, die von Eintagshühner-, -enten, -wachtel und -putenküken stammen. Die Kulturen werden 48 Stunden nach Probenansatz ausgewertet. Dabei wird unter dem Mikroskop auf das Vorhandensein normaler Zilienbeweglichkeit oder deren Fehlen untersucht. Am empfindlichsten reagieren Ententrachealkulturen (Nachweisgrenze 6 µg/kg), gefolgt von Trachealkulturen von Puten (28 µg/kg), Wachteln (47 µg/kg) und Hühnern (100 µg/kg).

WILLIAMS et al. (1979) untersuchen die in vitro-Empfindlichkeit verschiedener Hühnerrassen gegenüber Aflatoxin B₁ mittels Trachealkulturen. Sie kommen zu dem Ergebnis, daß braune Eier legende Hühnerrassen am empfindlichsten, Masthühnerrassen mittelgradig sensibel und weiße Eier legende Rassen am widerstandsfähigsten gegenüber Aflatoxin B₁ sind. Weiterhin reagieren weibliche Tiere empfindlicher als männliche.

2.6.3.2.3. Salinenkrebstest

MÜLLER und LEPOM (1985) beschreiben eine Nachweismethode, bei der das Vorhandensein von Mykotoxinen mittels der Absterberate von Salinenkrebslarven (*Artemia salina* L.) ermittelt wird. Dieses Verfahren wird u.a. auch zur toxikologischen Prüfung von Schimmelpilz-Starterkulturen verwendet (LEISTNER et al., 1987).

Die Auswertung des Versuchs erfolgt nach 24- und 48-stündiger Einwirkungszeit von Futtermittelextrakten auf die Larven. Dabei werden alle toten Tiere (d.h. alle Tiere, die sich nicht in ständiger Vorwärtsbewegung befinden) gezählt. Nach Feststellen der Gesamtzahl der Larven in der Probe wird die Absterberate der Larven in Prozent angegeben. Verdacht auf Mykotoxinkontamination liegt in den Proben vor, in denen 20 % der Larven abgestorben sind.

Vorteile dieses biologischen Nachweises sind die einfache Probenaufbereitung ohne aufwendige Reinigungsverfahren, das ständige Bereitstehen der Testorganismen und die einfache Durchführung, die weder Spezialausrüstungen noch Spezialkenntnisse des Bearbeiters erfordert (MÜLLER und LEPOM, 1985). Nachteil ist jedoch die je nach Extraktklarheit möglicherweise schwierige Probenauswertung.

2.6.3.2.4. Hauttoxizitätstest

Für den Trichothecennachweis werden sowohl Meerschweinchen (UENO et al., 1970) als auch Kaninchen (JOFFE, 1969) als geeignete Versuchstiere für die Hauttoxizitätsprobe empfohlen. In dem für Meerschweinchen von WERMTER (1980) bzw. für Kaninchen von DAU NGOC HAO (1986) beschriebenen Verfahren werden den Tieren auf dem Rücken vorsichtig die Haare entfernt (Rasur, chemische Haarentfernung). Dann wird mit einer Mikropipette oder Platinöse Futtermittelextrakt auf die Haut aufgebracht und nach 24 bis 48 Stunden die Wirkung

überprüft. Hautreaktionen wie Ödeme, Hämorrhagien und Nekrosen sind als positiv für das Vorhandensein dieser Gruppe von Mykotoxine zu werten.

Beim Kaninchen genügen Mengen von 0,1 µg T 2-Toxin bzw. 0,01 µg Diacetoxyscirpenol pro Fleck, um noch eindeutige Hautreaktionen auszulösen (DAU NGOC HAO, 1986).

2.6.3.2.5. Pollenkeimung mit Ziertabak

Der Pollenkeimungstest mit Ziertabak (*Nicotiana sylvestris*) stellt nach SCHULTZ und MOTZ (1983) eine einfache, schnelle und empfindliche Methode für den Routineeinsatz dar. Die Methode beruht auf dem Nachweis der Hemmung der Pollenkeimung von *Nicotiana sylvestris* nach Mykotoxinzugabe. Das Verfahren soll sich besonders zum Nachweis von T 2-Toxin und Diacetoxyscirpenol eignen, deren Nachweisgrenzen mit 4,9 ng/0,01 ml bzw. 30,3 ng/0,01 ml Probenextrakt (SCHULTZ und MOTZ, 1983) und 100-140 µg/kg bzw. 300-500 µg/kg Futtermittel (DAU NGOC HAO, 1986) angegeben werden.

2.6.3.2.6. Erbsenkeimung

Das von MÜLLER (1986) vorgeschlagene Bioverfahren mit Saatgut der Felderbse (*Pisum sativum subsp. arvense*) beruht auf einer Keimhemmung der Erbsen durch die phytotoxische Wirkung von Mykotoxinen, insbesondere Trichothecenen. Die Versuchsauswertung erfolgt durch Ermittlung der Anzahl "normal" gekeimter Samen, d.h. aller glatten Keime mit einer Länge von mehr als 5 mm nach 96-120 Stunden Inkubation auf toxinverdächtigem Substrat. Toxinverdacht liegt bei solchen Proben vor, bei denen Keimungsraten unter 60 % ermittelt werden.

2.6.3.2.7. Mäusetoxizitätstest

Auf den Einsatz von Mäusen als Versuchstiere kann beim Nachweis von Tremor erzeugenden Mykotoxinen noch nicht verzichtet werden. Dabei werden hochgereinigte Futtermittelextrakte Mäusen intraperitoneal verimpft. Im positiven Fall treten innerhalb weniger Minuten charakteristische Zitterbewegungen auf. Die minimale tremogene Dosis liegt bei 0,39 mg/kg Körpergewicht Verruculogen (BAUER, 1980).

2.6.3.3. Kombination biologischer Verfahren mit physikalisch-chemischen Methoden

Nach GEDEK (1972) kann durch kombinierte Anwendung biologischer Verfahren mit physikalisch-chemischen Methoden die Spezifität der Ergebnisse erhöht werden.

Da es im allgemeinen nicht möglich ist nach Krankheitsbild oder Artzugehörigkeit von im Futter nachgewiesenen Schimmelpilzen auf die Beteiligung eines bestimmten Toxins zu schließen, muß zur genauen Bestimmung eine Extraktion des verabreichten Futters erfolgen. Der Extraktion ist eine dünnschichtchromatographische Auftrennung anzuschließen, da auch mehrere Mykotoxine gleichzeitig eine Krankheit verursachen können und die zur Verfügung stehenden biologischen Nachweissysteme in der Regel keine spezifischen Mykotoxine anzeigen. Nach der dünnschichtchromatographischen Auftrennung werden toxinverdächtige Eluate mit Hilfe des Hühnerembryo- oder Zellkulturtestes ergänzend überprüft, um so das vorläufige Resultat des Dünnschichtchromatographie-Nachweises qualitativ und quantitativ zu erhärten (GEDEK, 1972).

Allerdings kann auch hierbei eine Probe nur anhand von Standards als verdächtig erkannt und dem biologischen Test zugeführt werden.

2.6.3.4. Immunologische Nachweisverfahren

Zum Nachweis von Mykotoxinen werden in jüngster Zeit vermehrt Radioimmunassay (RIA) und Enzyme-linked-Immunosorbent-assay (ELISA) eingesetzt, da sie in der Empfindlichkeit (Anzeige im Nano- bzw. Picogrammbereich) den herkömmlichen Verfahren überlegen sind (ROLLE und MAYR, 1984).

Das Prinzip des ELISA besteht darin, daß mit einem Enzym gekoppelte Antikörper und ein hydrolisierbares Substrat als Indikatorsystem zum Nachweis von Antigenen (in diesem Falle Mykotoxinen) verwendet werden (ROLLE und MAYR, 1984). Der Vorteil dieses Systems liegt in der schnellen und einfachen Versuchsdurchführung und der Ablesung des Ergebnisses innerhalb weniger Stunden, der Nachteil ist der zur Zeit noch sehr hohe Kostenaufwand. Zudem sind in der Fachliteratur noch keine Erfahrungen über seine Richtigkeit und Praktikabilität bei der Untersuchung von Körnermischfuttern mitgeteilt.

MÄRTLBAUR und TERPLAN (1985) beschreiben den enzymimmunologischen Nachweis von Aflatoxin M₁ in Milch, bei dem sie eine Nachweisgrenze von 2,5 ppt erzielen.

Beim RIA erfolgt der Nachweis von Antigenen (hier: Mykotoxinen) mit Hilfe radioaktiv markierter Antikörper (z.B. Jod-Isotope). FUN SUN CHU (1983) erreicht im RIA Nachweisgrenzen von 0,25-0,5 ng/kg bei Verwendung von Mykotoxinstandards, in nicht gereinigten Futtermittelproben liegt die Grenze bei 2-5 µg/kg.

3. MATERIAL UND METHODEN

3.1. Untersuchungsmaterial

Die Untersuchungsmethodik wurde am Beispiel von 24 Mischfutterproben für Wellensittiche (6 Proben), Kanarienvögel (5 Proben), Papagaien (7 Proben), Waldvögel (4 Proben), Exoten (2 Proben) sowie 61 Einzelsaaten überprüft. Laut Handelsüblichkeit beinhaltet der Begriff "Exoten" Prachtfinken, Amadinen, Astrilden und Webervögel.

Die Proben waren entweder an das Staatliche Tierärztliche Untersuchungsamt Aulendorf zur Untersuchung eingesandt oder in Geschäften der Umgebung gekauft worden. Das Untersuchungsgut enthielt bis zu zwei Jahre alte Proben, um möglichst auch überlagertes oder sogar verdorbenes Futter unter dem Untersuchungsmaterial zu haben.

Die Futtermischungen enthielten zwischen drei und sechzehn verschiedene SamenkompONENTEN in einer Probe. Genauere Angaben über die Futtermittel sind den Tabellen VII bis IX zu entnehmen.

3.2. Sensorische Untersuchung des Futters

3.2.1. Qualitative Futterzusammensetzung

3.2.1.1. Durchführung

Die Identifizierung der einzelnen Futtermittelkomponenten erfolgte mit Hilfe der Angaben aus Tabelle I (Kapitel 2.2.2.1.) und der in der Literatur veröffentlichten Beschreibungen und photographischen Abbildungen (TOLLEFSON, 1982; ANONYM, o.J.), die in vorliegender Arbeit in den Abbildungen 1 bis 28 zusammengefaßt werden (Anhang).

Die makroskopische Untersuchung der Futtermittelbestandteile erfolgte mit bloßem Auge. Neben der Identifizierung der Samen wurden in Anlehnung an die Angaben von MEYER et al. (1983) folgende Kriterien beurteilt:

<u>Größe:</u>	klein, mittel, groß (siehe Tabelle XII)
<u>Form:</u>	typisch, flach, vollrund, gebrochen, geschrumpft
<u>Keimanlage:</u>	unverändert, gekeimt, nicht vorhanden, verfärbt
<u>Integrität:</u>	Bohrlöcher, Risse, sonstige Verletzungen
<u>Geruch:</u>	unverändert, dumpf, muffig, sauer, ranzig, Fremdgeruch
<u>Verunreinigungen:</u>	mit z. B. Unkrautsamen, Staub, Steinen, Sand, Erdbröckchen, Nagetierkot, Milben, Insekten

Dazu wird eine kleine Probenmenge auf einer hellen Unterlage ausgebreitet und hinsichtlich der angegebenen Kriterien überprüft.

3.2.1.2 Auswertung

Beim Aussehen sprechen künstlich rot gefärbte Körner für die Anwendung von Beizmitteln, grüne Verfärbungen sind Zeichen unreifer Körner, blaue Samen sind häufig bereits denaturiert (MEYER et al., 1983). Durch Selbsterhitzung können Getreidekörner eine "helldunkel- bis rotbraune Farbe" annehmen (SPICHER, 1968).

Farbveränderungen können aber auch von Farbzusätzen herrühren, wie sie nach der EG-Richtlinie: Zusatzstoffe im Anhang I für Futtermittel aufgrund der Verarbeitung von Lebensmittelabfällen, denaturiertem Getreide oder Tapiokamehl oder sonstigem Ausgangsmaterial, das mit diesen Stoffen denatu-

riert ... oder gefärbt worden ist, zugelassen sind. Verwendet werden dürfen Patentblau V (E 131), Brilliantsäuregrün (E 142) und alle Stoffe, die in gemeinschaftlichen Vorschriften zur Färbung von Lebensmitteln zugelassen sind, wie z. B. Erythrosin (Zusatzstoff-Verkehrsverordnung vom 10.07.1984, Anlage 2, Liste 1). Derzeit werden Farbstoffe noch zur Vergällung von Erbsen und Süßlupinen eingesetzt (HACKER, 1988).

Muffiger Geruch deutet auf das Wachstum von Schimmelpilzen hin, saurer Geruch resultiert aus dem Abbau von Kohlenhydraten (SPICHER, 1968), ranziger Geruch deutet auf Fettverderb hin (WIESNER, 1970). Urinöser Geruch ist ein Hinweis auf Verunreinigung durch Nagetiere.

Bei den Verunreinigungen ist insbesondere Nagerkot bedenklich, da darin Krankheitserreger (z.B. Salmonellen oder Versinien) enthalten sein können, die auf Ziervögel übertragbar sind (RHOADES und RIMLER, 1984).

3.2.2. Quantitative Futterzusammensetzung

3.2.2.1. Durchführung

Entsprechend der Beschreibung von DELPY (1980) wurden von einer Mischfutterprobe 100 g abgewogen und in die einzelnen Futterkomponenten aufgetrennt. Durch Verwendung eines Siebes und durch Suspension der Futtermischung in Wasser wurde versucht, den Arbeitsaufwand für das Auftrennen zu verringern.

Nach einigen Vorversuchen wurde im Rahmen der vorliegenden Arbeit folgende eigene Methode zur quantitativen Futteruntersuchung entwickelt:

Nach gründlichem Durchmischen der Futterprobe wurden 5,0 g Futter abgewogen. Das Futter wurde auf eine DIN-A-4 Tageslichtprojektorfolie gelegt und mit Hilfe eines Kammes mit 5 mm Zahnabstand gleichmäßig darauf ausgebreitet. Für den anschließenden Zählvorgang wurden die Körner mit einer einseitig beschichteten, durchsichtigen Klebefolie (als Einbandfolie im Schreibwarenhandel erhältlich) fixiert. Zur Erleichterung des Auszählens wurde unter das durchsichtige Präparat ein Millimeterpapierraster gelegt. Mit Hilfe eines Koloniezählapparates mit Markierstift wurde nun das Präparat durchmustert und dabei eine erste Samenart mit dem Markierstift gekennzeichnet und gleichzeitig über das Zählwerk gezählt. Diese Zählung wurde so oft wiederholt, bis alle im untersuchten Futter vorhandenen Samenarten gezählt waren.

3.2.2.2. Auswertung

Zur Errechnung der quantitativen Futterzusammensetzung wurde die Gesamtzahl der einzelnen Körnerarten bestimmt, das durchschnittliche Gewicht der verschiedenen Samen durch Wiegen von je 10 Gruppen à 10 Körnern ermittelt und daraus nach folgender Formel ihr prozentualer Gewichtsanteil errechnet:

$$\text{Gewicht \%} = \frac{\text{Anzahl Samen} \times \text{Einkorngewicht Samen mg}}{5000 \text{ mg}}$$

3.3. Chemische Untersuchung des Futterfettes

Mit Hilfe der chemischen Untersuchung sollte über die Bestimmung der Fettkennzahlen (Peroxidzahl, Säurezahl) versucht werden, eine Aussage über den Frischezustand bzw. Verderbnisgrad des Fettanteils im Futter zu machen.

3.3.1. Peroxidzahl

Für die Peroxidzahl (POZ) wurde die Bestimmungsmethode nach WHEELER (DGF-Einheitsmethode C VI 6d (61) 2) verwendet (NEUMANN et al., 1976).

Als Ausgangsmaterial dienten 50 g gut durchgemischtes Futter, das in einer Analysenmühle (IKA A 10 S, Fa. Janke & Kunkel, D-7813 Staufen i. Brg.) zerkleinert wurde. Das gemahlene Futter wurde in einem Erlenmeyerkolben mit ca. 200 ml Petroläther (Fa. Merck, Darmstadt) versetzt und über Nacht verschlossen kühl und dunkel stehen gelassen. Zur Entfernung des Wassers wurde die Futtersuspension über Calciumchlorid in einen Rundkolben filtriert und anschließend am Rotationsverdampfer bei 40°C der Petroläther abgedampft. Vom verbliebenen öligen Rückstand wurde ein aliquoter Teil (1 bis 3 g) in einen Erlenmeyerkolben mit Schliff überführt, mit 30 ml eines Gemisches aus Chloroform und Eisessig (2 : 3) übergossen und 0,5 ml einer frisch zubereiteten gesättigten Kaliumjodidlösung zugegeben. Dann wurde der Kolben verschlossen und genau eine Minute kräftig geschüttelt. Unmittelbar danach wurden 30 ml Aqua dest. hinzugefügt und zügig mit 0,002 n Natriumthiosulfatlösung unter Verwendung von 1 %iger Stärkelösung als Indikator titriert. Die Peroxidzahl berechnet sich nach der Formel:

$$\text{POZ} = \frac{\text{ml verbrauchte Na}_2\text{S}_2\text{O}_4 \times 0,002 \times 1000}{\text{Einwaage in g}}$$

Milliäquivalente
peroxidisch
gebundenen sauer-
stoffs/kg Fett

3.3.2. Säurezahl

Die Bestimmung der Säurezahl (SZ) erfolgte in Anlehnung an die DGF-Einheitsmethode C V 2 (57), NEUMANN et al. (1976). Die Fettextraktion wurde in der in Abschnitt 3.3.1. beschriebenen Weise durchgeführt. Nach Abdampfen des Petroläthers im Rotationsverdampfer wurde ein aliquoter Teil Fett (1 bis 3 g) in einem Erlenmeyerkolben mit 100 ml einer Mischung aus gleichen Volumenteilen Ethanol, 95 %ig und

Diethyläther versetzt. Nach Zugabe einiger Tropfen Phenolphthaleinlösung titrierte man rasch mit 0,5 n ethanolischer Kalilauge bis zum Farbumschlag des Indikators. Der Endpunkt ist erreicht, wenn die Rotfärbung einige Sekunden bestehen bleibt. Die Säurezahl errechnet sich nach der Formel:

$$SZ = \frac{\text{ml verbrauchte KOH} \times 28,05}{\text{Einwaage in g}} \quad \text{mg KOH/g Fett}$$

3.4. Frischekriterien

3.4.1. Keimfähigkeitsprobe

3.4.1.1. Durchführung

Nach der von HOF LUND (1983) angegebenen Methode wurden ca. 100 Körner pro Futtermischung in jeweils zwei sterilen Petrischalen auf angefeuchtetem Filterpapier ausgebreitet und zugedeckt mit angefeuchtetem Filterpapier im Deckel. Eine Petrischale wurde bei Raumtemperatur (20°C), die andere im Brutschrank (37°C) aufbewahrt.

3.4.1.2. Auswertung

Die Schalen wurden am 1., 3. und 5. Tag nach dem Anlegen auf Keim- und Wurzelbildung sowie das Auftreten von Schimmelpilzen untersucht.

Bei jeder Ablesung wurde die Zahl der gekeimten Körner und der Befall mit Pilzen (nicht vorhanden -/ schwach +/ mittel ++/ stark +++) registriert. Aus der Gesamtzahl der Körner und der Anzahl der gekeimten Samen wurde die Keimungsrate errechnet.

3.4.2. Löschpapierprobe

Die von STURMAN und SCHULTS (1980) vorgeschlagene Methode, bei der fetthaltige Sämereien mit dem Daumen auf einem Blatt Löschpapier zerdrückt werden sollten, um ihre Frische anhand der Größe des entstandenen Fettfleckes zu bestimmen, wurde folgendermaßen modifiziert:

Der zu prüfende Samen wurde in ein Tichinenkompressorium zwischen zwei Löschpapierstreifen gelegt, das Kompressorium zugeschraubt und 5 Minuten gepreßt. Dann wurden die Papierstreifen entnommen, die Umrisse des entstandenen Fleckes mit einem Bleistift markiert und seine Fläche über Millimeterpapier bestimmt.

3.5 Mikrobiologische Untersuchung des Futters

Durch die mikrobiologische Untersuchung des Futters soll der Gesamtkeimgehalt sowie der Gehalt an spezifischen Krankheitserregern ermittelt werden. Die vorliegende Arbeit ist dabei auf Erarbeitung und Prüfung aussagekräftiger, praktikabler Routinemethoden ausgerichtet. Es wurde deswegen versucht, den Material-, Arbeits- und Zeitaufwand der mikrobiologischen Untersuchung so gering wie möglich zu halten und trotzdem ein für den bakteriellen Status repräsentatives Ergebnis zu erhalten. Einige der in der Literatur beschriebenen Arbeitsmethoden (GEDEK, 1974; SCHMIDT et al., 1981) wurden dementsprechend modifiziert.

3.5.1. Durchführung

Ausgangsmaterial waren 5,0 g gut durchgemischtes Futter, das mit 50 ml sterilem Aqua dest., also im Verhältnis 1 : 10, aufgeschwemmt wurde. Diese Aufschwemmung wurde etwa eine Minute lang mit einem sterilen Ultraturraxstab zerkleinert, in einen Erlenmeyerkolben gegeben und dort zusammen mit ei-

nigen sterilen Glasperlen 30 min lang auf einem Schüttelgerät (IKA-VIBRAX-VXR, Fa. Janke & Kunkel, 7813 Staufen i. Brg.) geschüttelt. Von der $1 : 10^{-1}$ Suspension wurden weitere Zehnerverdünnungen bis $1 : 10000$ (10^{-4}) hergestellt, indem jeweils 5 ml der vorhergehenden Verdünnung in 45 ml vorgelegtes Aqua dest. einpipettiert wurden. Verdünnungen über 10^{-4} wurden nicht mehr angelegt, nachdem sich in Vorversuchen erwiesen hatte, daß höhere Verdünnungen in der Regel keine auswertbaren Ergebnisse mehr lieferten.

Von der Verdünnung 10^{-1} wurde zur groben Überprüfung der Bakterienpopulation je eine Öse Material im Verdünnungsstrich auf je eine Agar-, Gassner- und Blutagarplatte ausgestrichen und 24 Stunden bei 37°C bebrütet.

Von den Verdünnungen 10^{-2} bis 10^{-4} wurden für den Clostridiennachweis in vor Gebrauch erhitzte Leber-Leberbouillonröhrchen jeweils 0,1 ml einpipettiert, mit verflüssigtem Paraffin überschichtet und 24 Stunden bei 37°C bebrütet.

Für die Bakterienzahlbestimmung wurde von den Verdünnungen 10^{-2} bis 10^{-4} jeweils 0,1 ml auf je vier Agarnährböden ohne Zusätze mit einem abgeflamten Spatel aufgespatelt bzw. beim Gußplattenverfahren jeweils 0,1 ml in vier sterile Petrischalen einpipettiert, mit 10 ml verflüssigtem, auf 50°C abgekühltem Nähragar unter rotierenden Bewegungen vermischt und nach dem Erstarren mit weiteren 5 ml flüssigem Agar überschichtet. Die Bebrütung erfolgte bei 28°C .

Für die Pilzzahlbestimmung wurden von den Verdünnungsstufen 10^{-2} bis 10^{-4} je 0,1 ml auf jeweils vier Sabouraudplatten aufgespatelt und ebenfalls bei 28°C bebrütet.

3.5.2 Ablesung und Auswertung

Nach 24 Stunden können die bei 37°C bebrüteten Agar-, Blutagar- und Gassnerplatten sowie die Clostridienröhrchen abgelesen werden.

Die auf den drei Platten angewachsenen Keime werden anhand ihrer Koloniemorphologie, ihrer biochemischen Eigenschaften

und einer Gramfärbung identifiziert und die vorherrschenden Keimarten bestimmt.

Von allen Bouillonröhrchen mit Gasbildung fertigt man zum Clostridiennachweis Gramfärbungen an. Als Ergebnis wird der Clostridientiter bezogen auf den Titer 1 : 1000 angegeben (größer oder kleiner).

Die Zählung der nach dem Spatelverfahren angelegten Agarplatten erfolgt am zweiten Tag nach Probenanlage, beim Gußplattenverfahren wird am vierten Tag ausgezählt. Die Pilzzählung erfolgt in der Regel nach einer Bebrütungsdauer von 7 Tagen.

Zur Auszählung wählt man diejenigen Verdünnungsstufen aus, bei denen zwischen 30 und 200 Kolonien bei Bakterien und 25 bis 100 Kolonien bei Pilzen je Platte gewachsen sind. Nach SCHMIDT (1963) stellen diese Bereiche die günstigsten Voraussetzungen für eine exakte Zählung dar. Die Zählung der Bakterienkolonien kann je nach Laborausstattung mit einem Koloniezähler mit Markierstift oder einem elektronischen Zählgerät erfolgen.

Die Pilzkolonien zählt man aufgrund ihrer recht unterschiedlichen Größen am besten mit einem Koloniezähler mit Markierstift und Lupe. Zusätzlich wird unter dem Stereomikroskop das Vorhandensein von Pilzmikrokolonien überprüft. Die Berechnung der Keimzahl pro Gramm Futter ergibt sich durch Multiplikation des Mittelwertes der vier ausgezählten Platten mit dem dazugehörigen Verdünnungsfaktor und dem Umrechnungsfaktor, der sich aus der Einwaagemenge ergibt.

Die Ergebnisse werden gemäß der offiziellen ICC-Methoden für Bakterien in Millionen pro Gramm Futter und für Pilze in Tausend pro Gramm Futter angegeben.

Unter- oder überschreitet die Koloniezahl den Erfassungsbereich der angelegten Verdünnungsstufen, so kann die Keimzahl gegebenenfalls auch mit "kleiner als" oder "größer als" angegeben werden.

3.6. Mykotoxikologische Untersuchung des Futters

Bei der mykotoxikologischen Untersuchung sollen für die Prüfung von Vogelfutter geeignete Screeningverfahren geprüft werden, die möglichst viele verschiedene Mykotoxinar-ten erfassen und einfach sowie zeit- und kostensparend durchzuführen sind. Im Hinblick auf diese Anforderungen kommen derzeit vor allem biologische Verfahren in Betracht. Aus den in der Literatur beschriebenen biologischen Nachweismethoden wurden aufgrund ihrer einfachen Durchführbarkeit und des geringen Material- und Kostenaufwandes der Artemia-salina-Test nach MÜLLER und LEPOM (1985), der Erbsenkeimungstest nach MÜLLER (1986) und der Test mit Trachealkulturen nach COLWELL et al. (1973) ausgewählt und auf ihre praktische Anwendbarkeit bei der mykotoxikologischen Untersuchung von Vogelfutter überprüft. Weiterhin wurden Versuche mit Hühnerembryofibroblasten-, Enten- und Hühnerküennierenzell- sowie Hühnerembryoleberzellkulturen durchgeführt.

3.6.1 Futtermittelextraktion

Die Herstellung der Futtermittelextrakte erfolgte in der von MÜLLER und LEPOM (1985) beschriebenen Weise. 25 g Futter wurden in einer Analysenmühle (Fa. IKA, Modell A 10 S, Janke & Kunkel, 7813 Staufen i. Brg.) gemahlen, in einem 100 ml Erlenmeyerkolben mit Schliff eingewogen und zum Aufschluß des Futters und der Herauslösung der Mykotoxine mit 10 ml 1 %iger NaCl-Lösung und 60 ml Methanol versetzt. Um eine gute Extraktion zu erreichen, wurde eine Stunde im Heidolph-Überkopfschüttler (Typ REAX 2) geschüttelt. Zur Abtrennung der festen Futterbestandteile wurde die Suspension unter leichtem Vakuum durch eine doppelte Lage Schnellfilterpapier (Fa. Schleicher & Schüll, Nr. 592) filtriert und der Rückstand einmal mit 10 ml Methanol nachgewaschen. Der so gewonnene Extrakt wurde in einen Scheide-

trichter überführt und zur Entfernung der Fette und sonstiger störender fettlöslicher Verbindungen dreimal mit je 30 ml n-Hexan ausgeschüttelt. Die untere wässrig-methanolische Phase wurde im Rundkolben gesammelt, die Hexanphase verworfen. Anschließend wurde der Extrakt im Rotationsverdampfer bei 40°C auf ca. 10 ml eingeengt. Der wässrige Rückstand wurde unter Erwärmung im Wasserbad bei 60°C mit 60 ml 1 %iger NaCl-Lösung versetzt und dort ca. 5 Minuten stehen gelassen, um weitere Störsubstanzen abzutrennen. Nach dem Abkühlen wurde der Extrakt zur Herauslösung der Mykotoxine im Scheidetrichter zweimal mit je 30 ml Chloroform ausgeschüttelt und die untere Chloroformphase im Spitzkolben gesammelt. Am Rotationsverdampfer wurde der Extrakt bis zur Trockne eingedampft und der verbliebene Rückstand in 1 ml Chloroform aufgenommen. Der so gewonnene Rohextrakt wurde bis zur weiteren Verwendung in 2 ml Schraubgläschen im Kühlschrank aufbewahrt.

3.6.2. Mykotoxinstandardsubstanzen und Lösungsmittel

Die verwendeten Mykotoxinstandards wurden als kristalline Reinsubstanzen von der Firma SIGMA Chemie GmbH, Grünwalder Weg 30, D-8024 Deisenhofen, bezogen:

Aflatoxin B ₁	(Best.-Nr. A 6655)
Ochratoxin A	(Best.-Nr. O 4001)
T 2-Toxin	(Best.-Nr. T 4887)
Diacetoxyscirpenol	(Best.-Nr. D 0761)
Zearalenon	(Best.-Nr. Z 2125)

Die oben genannten Mykotoxine wurden ausgewählt, weil sie in der Literatur häufig erwähnt werden und entsprechende Standards im Handel zu beziehen sind. Die Flüssigchemikalien stammten von der Fa. Merck, Darmstadt. Es wurden Lösungsmittel in per analysem-Qualität verwendet.

Zur Herstellung der Ausgangslösungen mit Konzentrationen von 200 µg/ml bei Aflatoxin B₁, Ochratoxin A, T 2-Toxin und

Diacetoxyscirpenol sowie 2 mg/ml bei Zearalenon wurden jeweils 1 mg bzw. 10 mg Reinsubstanz in 5 ml Chloroform bzw. bei Zearalenon in 5 ml einer Lösung aus 70 Teilen Toluol, 50 Teilen Ethylacetat, 50 Teilen Chloroform, 20 Teilen Ameisensäure (konzentriert) gelöst und bis zur Verwendung im Kühlschrank aufbewahrt.

Entsprechend den verschiedenen Nachweisverfahren wurden von den Ausgangslösungen nach Abdampfen des Chloroforms unter Stickstoffstrom Verdünnungen mit den jeweiligen Lösungsmitteln hergestellt. Im Salinenkrebstest wurde künstliches Meerwasser verwendet, im Erbsenkeimtest 0,5 %ige NaCl-Lösung, bei den Trachealkulturen und den verschiedenen Zellkulturen die entsprechenden Wachstumsmedien.

3.6.3. Salinenkrebstest

3.6.3.1. Durchführung

Für die Larvenanzucht dienten im Zoohandel als Zierfischfutter erhältliche Salinenkrebseier (Fa. Sera, Sera-Zierfischfutter, 5138 Heinsberg), die bei trockener und kühler Lagerung mehrere Monate entwicklungsfähig bleiben.

Die Ausbrütung der Krebseier erfolgte in der von EPPLEY (1974) beschriebenen Weise. Dazu wurde eine Petrischale (15 mm Höhe, 90 mm Durchmesser) in der Mitte mit einem gelochten Plastikstreifen unterteilt und eine Hälfte durch Bekleben mit schwarzem Papier verdunkelt. Die Petrischale wurde mit künstlichem Meerwasser gefüllt und in die dunkle Hälfte wurden so viele Eier gegeben, daß die halbe Wasseroberfläche bedeckt war.

Künstliches Meerwasser kann aus einer Mischung von

23,48	g	NaCl
4,98	g	MgCl
3,92	g	Na ₂ SO ₄

1,10 g CaCl_2
0,66 g KCl
0,19 g NaHCO_3
0,10 g KBr
0,03 g H_3BO_4
0,003 g NaF

in 1000 ml Aqua dest. selbst hergestellt werden (pH 7,0 - 7,5).

Im 25°C-Brutschrank benötigen die Larven ca. 48 Stunden zum Ausschlüpfen. Da die Larven positiv phototaktisch reagieren, schwimmen die geschlüpften Tiere in die helle Hälfte der Petrischale, aus der sie mit einer Pasteurpipette leicht abgesaugt werden können.

Aus dem Futtermittel-Rohextrakt wurde 1 ml in ein Zentrifugenglas überführt, das Chloroform abgedampft (im Stickstoffstrom) und der Rückstand erneut in einer Lösung aus 1 %iger NaCl-Lösung und Methanol im Verhältnis 9 : 1 gelöst. Zur Elimination noch vorhandener Störsubstanzen wurde der Extrakt mit 1 ml n-Hexan versetzt, geschüttelt und zentrifugiert. Die obere Hexanphase wurde vorsichtig mit einer Pasteurpipette abgesaugt und verworfen. Die untere wässrige Phase wurde zur Herauslösung der Mykotoxine mit 1 ml Chloroform versetzt, geschüttelt, zentrifugiert und anschließend die untere Chloroformphase herauspipettiert und in ein Penicillingläschen (10 mm Durchmesser, 60 mm hoch mit ebenem Boden) überführt. Das Chloroform wurde in der oben beschriebenen Weise abgedampft und anschließend in jedes Gläschen 30 bis 50 Salinenkrebslarven in 1 ml Meerwasser gegeben. Als Leerwerte dienten 2 Gläschen mit je 1 ml abgedamptem Chloroform. Der Versuchsansatz wurde bis zur Ablesung im 25°C-Brutschrank aufbewahrt. In der Regel wurden Doppelbestimmungen durchgeführt.

3.6.3.2. Auswertung

Die Ablesung des Testes erfolgte sofort, 24 und 48 Stunden nach Zugabe der Salinenkrebslarven. Dabei wurden unter einem Stereomikroskop alle toten Larven, d.h. alle Tiere, die sich nicht in ständiger Vorwärtsbewegung befanden, gezählt. Nach der dritten Ablesung wurden noch lebende Tiere durch Zugabe einiger Tropfen Aceton abgetötet und die Gesamtzahl der pro Röhrchen enthaltenen Larven bestimmt. Als Ergebnis wird die Absterberate in Prozent toter Larven angegeben. Verdacht auf Toxingehalt im Futterextrakt liegt nach MÜLLER und LEPOM (1985) vor, wenn Absterberaten von mehr als 20 % auftreten und im Kontrollansatz (Leerwert) die Absterberate weniger als 10 % beträgt.

3.6.3.3. Einfluß verschiedener Samenarten auf die Absterberate der Salinenkrebslarven

Da denkbar ist, daß außer Mykotoxinen auch noch andere aus dem Futter extrahierte Substanzen auf die Salinenkrebslarven toxisch wirken, wurden mehrere verschiedene Einzelsaaten in ihrer Wirkung auf die Absterberate der Salinenkrebse geprüft. Insbesondere wurden der senföhlhaltige Raps bzw. Rübsen, der Blausäureglykoside enthaltende Hanf und Leinsamen, der alkaloidhaltige Mohnsamen sowie Sonnenblumenkerne, Hirse, Kanariensaat und Negersaat in die Untersuchung einbezogen. Dabei wurde wie in Abschnitt 3.6.1. bzw. 3.6.3. beschrieben verfahren.

3.6.4. Erbsenkeimung

3.6.4.1. Durchführung

Als Material wurde im Futtermittelhandel erhältliches Saatgut der Futtererbse (*Pisum sativum subsp. arvense*) verwen-

det. Aus dem Futtermittelrohextrakt wurden 0,5 ml in 100 ml-Bechergläser pipettiert, das Chloroform an der Luft abgedampft und der Rückstand in 10 ml 0,5 %iger NaCl-Lösung aufgenommen. In diese Lösung wurden pro Versuchsansatz 30 Erbsen gelegt und über Nacht zugedeckt bei Raumtemperatur stehen gelassen. Als Kontrolle dienten 30 in 10 ml 0,5 %ige NaCl-Lösung gelegte Erbsen. Anschließend wurde die Flüssigkeit abgegossen, die gequollenen Erbsen in Petrischalen auf angefeuchtetem Filterpapier ausgelegt und zugedeckt ließen wir die Erbsen drei Tage lang bei Raumtemperatur auskeimen.

3.6.4.2. Auswertung

Am vierten Tag der Auskeimung erfolgte die Versuchsauswertung, bei der die Anzahl der normal gekeimten Erbsen bestimmt wurde. Als "normal gekeimt" gelten alle Erbsen mit glatten Keimen und einer Länge von mehr als 5 mm. Toxinverdacht liegt nach MÜLLER (1986) bei den Proben vor, bei denen die Keimungsrate unter 60 % liegt.

3.6.5. Trachealkulturen

3.6.5.1. Durchführung

Die Trachealkulturen wurden mit Hilfe von den in Abschnitt 3.6.2. beschriebenen Mykotoxinstandardsubstanzen auf ihre Nachweisempfindlichkeit überprüft. Folgende Standards standen zur Verfügung:

Aflatoxin B ₁	(0,00003 - 6,6 µg/ml)
Ochratoxin A	(0,0005 - 6,6 µg/ml)
T 2-Toxin	(0,0005 - 1,0 µg/ml)
Diacetoxyscirpenol	(0,0005 - 1,0 µg/ml)
Zearalenon	(0,005 - 66,6 µg/ml)

Von den Mykotoxinstandards wurden oben genannte Verdünnungsstufen mit Trachealzellkulturmedium hergestellt bzw.

die Standards zuerst Ziervogelfutter (AS-Sittichfutter) beigegeben, daraus nach der unter 3.6.1. beschriebenen Methode extrahiert und dann mit Trachealzellkulturmedium weiterverdünnt. Vergleicht man die Empfindlichkeit der Systeme nach Direktverdünnung in Medium und nach vorherigem Zusatz zum Futter und anschließender Extraktion, läßt sich ermitteln, welcher Prozentsatz der tatsächlich im Futter vorhandenen Mykotoxine wiedergefunden werden kann.

Trachealkulturen von Hühner- und Entenküken wurden in der von LOCHER (1983) bzw. LOCHER et al. (1983) beschriebenen Weise hergestellt. Männliche Eintagsküken vom Legetyp stammten aus einer kommerziellen Brüterei (Fa. Weiß, Kirchberg-Iller), die unter ständiger Kontrolle des Geflügelgesundheitsdienstes in Aulendorf steht und zur Zeit der Kükenlieferung keine Anzeichen einer infektiösen Krankheit zeigte. Bei den ein bis fünf Tage alten Entenküken handelte es sich um männliche und weibliche Mastentenküken der Linie Super-Pekingente M 76, die uns vom Zuchtbetrieb Schwerk (2117 Wisted-Nordheide) freundlicherweise zur Verfügung gestellt wurden.

Die Küken wurden durch Kopfschlag betäubt und mittels Durchschneiden der Halswirbelsäule getötet, ohne daß dabei die Luftröhre verletzt wurde. Nach Entfernen der Halshaut durch stumpfes Aufreißen wurden die Luftröhren zwischen Kehlkopf und Bifurkation steril entnommen und in vorgewärmter Waschlösung (Hank's MEM mit Zusatz von je 300 I.E. Penicillin und Streptomycin /ml) aufbewahrt. Möglichst umgehend wurden die Luftröhren dann unter sterilen Bedingungen mit Pinzette und Skalpell vom umgebenden Fett- und Bindegewebe befreit und in etwa 1 mm breite Ringe geschnitten. Da die Luftröhren der Entenküken zur Kontraktion neigten, wurden sie beim Schneiden möglichst lang gestreckt. Bis zur Verteilung der Luftröhrenringe auf die Reagenzröhrchen wurden sie bei 37°C in einem Erlenmeyerkolben mit Medium aufbewahrt. Je drei bis vier Trachealringe wurden in 2 ml Trachealkulturmedium (Hank's MEM, pH 7,2 mit Zusatz von je

300 I.E. Penicillin und Streptomycin sowie 100 I.E. Moronal /ml) in Reagenzröhrchen aus Glas übertragen. Die Röhrchen enthielten im Medium die bereits zuvor genannten Mykotoxinstandardkonzentrationen bzw. Ziervogelfutterextrakte mit Zusatz dieser Standards. Die Röhrchen wurden mit Stopfen verschlossen und bei 37°C auf einem Rollertubes-Gerät (Fa. Schütt, 3400 Göttingen) bei 70 bis 80 Umdrehungen pro Stunde gedreht.

Als Kontrolle dienten Trachealringe in Trachealkulturmedium mit und ohne Zusatz von verdampftem Lösungsmittel, wie es zur Mykotoxinextraktion aus dem Futter verwendet wurde. Die Dauer der Inkubation betrug drei bis vier Tage, da Vorversuche gezeigt hatten, daß eine Inkubation über einen längeren Zeitraum keine anderen Ergebnisse erbrachte. Dieser Zeitraum entspricht in etwa den Angaben von COLWELL et al. (1973) für Trachealkulturen in aflatoxinhaltigem Medium.

3.6.4.2. Auswertung

Zur Ablesung wurden die Trachealringe aus den Röhrchen auf Objektträger gelegt, mit etwas Medium überschichtet und unter einem Lichtmikroskop bei 125-facher Vergrößerung auf Ziliostase untersucht. Als ziliostatisch wurde eine Kultur dann angesehen, wenn über 90 % der Zilien unbeweglich oder in ihrer Flimmertätigkeit deutlich eingeschränkt waren. Im allgemeinen wurden drei unabhängige Versuchsansätze durchgeführt und aus den Ergebnissen der Mittelwert errechnet.

3.6.6. Zellkulturen

3.6.6.1 Durchführung

Nach den üblichen Methoden (MAYR et al., 1974) wurden aus 10 Tage alten Hühnerembryonen Fibroblastenkulturen (HEF), aus 12 Tage alten Hühnerembryonen Leberzellkulturen (HEL),

aus 18 Tage alten Hühnerembryonen Nierenzellkulturen (HEN) und aus 2 Tage alten Entenküken Entennierenzellkulturen (EKN) hergestellt. Die Zellsuspensionen wurden im Mikrotitersystem in Zellkulturmedium, das abgestufte Mykotoxinkonzentrationen enthielt, hinzugegeben. Das Medium für die HEF, HEN und EKN hatte folgende Zusammensetzung:

Hank's MEM pH 7,2 mit 200 I.E. Penicillin / ml	
200 I.E. Streptomycin / ml	
10% Basalmediumsupplement (BMS)	
(Fa. Biochrom KG, Berlin)	
4 % fetales Kälberserum	
5 % Tryptosephosphat	

Für die HEL wurde folgendes Medium verwendet:

Hank's M 199 mit	300 I.E. Penicillin / ml
	300 I.E. Steptomycin / ml
	25 I.E. Moronal / ml
	10 % Basalmediumsupplement
	(Fa. Biochrom KG, Berlin)
	4 % fetales Kälberserum
	5 % Tryptosephosphat

Auch bei diesem Test wurde die Auswirkung der verwendeten Chemikalien ohne Mykotoxinstandards geprüft.

3.6.6.2 Auswertung

Die Ablesung der Zellkulturen erfolgte nach 24 bis 48 Stunden bei den HEF, nach 72 bis 96 Stunden bei den HEN und HEL und nach 120 Stunden bei den EKN.

Es wurden diejenigen Toxinkonzentrationen bestimmt, die das Anwachsen einer geschlossenen Zelldecke noch verhinderten. Pro Verdünnung wurden drei unabhängige Versuchsansätze durchgeführt und der Mittelwert der Ergebnisse errechnet. Auf eine Prüfung der Mykotoxinstandards auf bereits ausgebildeten Zellrasen wurde nach Vorversuchen verzichtet, da

theoretisch davon ausgegangen wurde, daß die Toxine auf wachsenden Zellen eine ausgeprägtere Wirkung entfalten als in bereits etablierten Zellkulturen.

4. ERGEBNISSE

4.1. Sensorische Untersuchung des Futters

4.1.1. Qualitative Zusammensetzung von Futtermitteln

In den Tabellen VII bis XI wird die qualitative Zusammensetzung von in der Bundesrepublik Deutschland erhältlichen Handelsfuttermitteln für Wellensittiche, Kanarienvögel, Exoten, Papageien und Waldvögel dargestellt. Zusätzlich sind die prozentualen Gewichtsanteile der enthaltenen Samenarten erwähnt.

Tab. VII: Zusammensetzung von 5 verschiedenen, in der Bundesrepublik Deutschland erhältlichen Handelsfuttermitteln für Wellensittiche (in %)

Futtermittel	A	B	C	D	E
Hirse, weiß	} 42,0	} 82,0	70,0	} 90,0	} 70,0
Hirse, gelb			-		
Hirse, rot			-		
Japanhirse	-	-	-	-	-
Kanariensaat	44,0	7,5	22,0	7,0	1,0
Hafer, geschält	10,0	8,0	8,0	3,0	7,0
Raps	-	-	-	-	15,0
Negersaat	1,0	0,5	-	-	4,0
Hanf	1,0	0,5	-	-	-
Leinsamen	2,0	1,5	-	-	3,0

- nicht enthalten

Tab. VIII: Zusammensetzung eines in der Bundesrepublik Deutschland erhältlichen Handelsfuttermittels für Exoten (in %)

Futtermittel	A
Hirse, weiß	} 94,3
Hirse, gelb	
Hirse, rot	
Japanhirse	-
Kanariensaat	-
Hafer, geschält	4,5
Negersaat	1,2

- nicht enthalten

Tab. IX: Zusammensetzung von 3 verschiedenen, in der Bundesrepublik Deutschland erhältlichen Handelsfuttermitteln für Kanarienvögel (in %)

Futtermittel	A	B	C
Hirse, weiß	} 14,7	} 16,1	-
Hirse, gelb			-
Hirse, rot			-
Kanariensaat	28,4	41,4	25,0
Hafer, geschält	3,0	1,0	5,0
Weizen	2,5	-	-
Raps	15,3	36,0	47,0
Negersaat	5,7	0,5	15,0
Hanf	17,4	1,5	-
Leinsamen	11,5	3,5	3,0
Mohnsamen	1,0	-	-
Salatsamen	0,5	-	-
Perillasaat	-	-	5,0

- nicht enthalten

Tab. X: Zusammensetzung von 2 verschiedenen, in der Bundesrepublik Deutschland erhältlichen Handelsfuttermitteln für Papageien (in %)

Futtermittel	A	B
Hirse, weiß	-	-
Hafer, geschält	-	5,0
Mais	3,2	5,0
Milokorn	7,5	-
Buchweizen	7,5	3,0
Weizen	14,8	2,0
Gerste	18,5	-
Sojabohne	-	-
Paddyreis	-	-
Hanf	12,0	2,0
Leinsamen	-	-
Sonnenblumenkerne	24,5	50,0
Erdnuß	1,0	15,0
Kürbiskern	11,0	2,0
Kardisaat	-	6,0
Zirbelnuß	-	5,0
Ebereschenbeere	-	5,0

- nicht enthalten

Tab. XI: Zusammensetzung von 3 verschiedenen, in der Bundesrepublik Deutschland erhältlichen Handelsfuttermitteln für Waldvögel (in %)

Futtermittel	A	B	C
Hirse, weiß	7,3	-	-
Japanhirse	-	-	2,0
Kanariensaat	32,3	10,0	10,0
Hafer, geschält	9,4	-	-
Buchweizen	8,1	-	-
Raps	17,2	4,0	-
Negersaat	6,8	25,0	20,0
Leinsamen	7,2	3,0	3,0
Mohn	-	4,0	3,0
Sonnenblumenkern	1,7	3,0	3,0
Salatsamen	-	10,0	10,0
Fichtensamen	-	-	1,0
Ebereschenbeere	4,0	-	-
Perillasaat	-	10,0	10,0
Hanf	6,0	3,0	3,0
Sesam	-	-	2,0
Sonstige	-	28,0	33,0

- nicht enthalten

4.1.2. Quantitative Zusammensetzung von Futtermitteln

In Tabelle XII wird das durchschnittliche Gewicht in mg der in handelsüblichen Futtermischungen enthaltenen Bestandteile dargestellt, das zur quantitativen Futteranalyse verwendet wurde. Die Werte stellen den Mittelwert aus der Messung von je 100 Körnern dar.

Tab. XII: Durchschnittliches Gewicht der wichtigsten in handelsüblichen Futtermischungen enthaltenen Bestandteile (in mg)

Samenart (n = 100)	Durchschnittliches Gewicht pro Korn in mg $\pm$ s
Buchweizen	28 $\pm$ 3
Ebereschenbeere	111 $\pm$ 10
Fichtensamen	19 $\pm$ 1
Gerste	36 $\pm$ 6
Hafer, geschält	24 $\pm$ 2
Hanf	21 $\pm$ 2
Hirse, weiß	6 $\pm$ 0,3
Hirse, gelb	5 $\pm$ 0,3
Hirse, rot	6 $\pm$ 0,4
Japanhirse	3 $\pm$ 0,1
Kanariensaat	7 $\pm$ 0,5
Leinsamen	5 $\pm$ 0,2
Mohnsamen	0,6 $\pm$ 0,1
Negersaat	4 $\pm$ 0,5
Paddy-Reis	26 $\pm$ 1,7
Perillasaat	3 $\pm$ 0,6
Raps	2,5 $\pm$ 0,1
Sesam	4 $\pm$ 0,2
Sonnenblumenkern, gestreift	78 $\pm$ 10
Sonnenblumenkern, weiß	86 $\pm$ 12
Weizen	39 $\pm$ 3

Tabelle XIII zeigt Einzel- und Mittelwerte von fünf unabhängigen Ansätzen zur Ermittlung der quantitativen Zusammensetzung von Futtermischungen. Durch diese Untersuchung sollte die Wiederholbarkeit der Zählmethode überprüft werden.

Tab. XIII: Einzel- und Mittelwerte in % von 5 verschiedenen Ansätzen zur Ermittlung der quantitativen Zusammensetzung von Futtermischungen anhand zweier Futterarten

Ansatz	1	2	3	4	5	Mittelwert ± s
FUTTER A						
Kanariensaat	33,6	30,4	34,2	34,4	28,6	32,2 ± 2,6
Raps	14,8	15,6	17,0	16,5	15,4	15,9 ± 0,9
Buchweizen	11,2	3,4	7,3	8,4	7,3	7,5 ± 2,8
Leinsamen	6,6	7,5	6,9	6,2	4,9	6,4 ± 1,0
Negersaat	7,3	7,1	7,3	7,9	6,7	7,3 ± 0,4
Hafer, geschält	12,0	15,4	7,2	8,6	13,4	11,3 ± 3,4
Hirse	5,2	7,7	10,3	9,4	8,8	8,3 ± 2,0
Hanf	7,6	5,0	5,0	2,9	6,7	5,4 ± 1,8
Ebereschenebeeren	6,6	2,2	2,2	4,4	2,2	3,5 ± 2,0
Sonnenblumenkerne	0	3,1	1,6	1,6	1,6	1,6 ± 1,1
FUTTER B						
Kanariensaat	8,5	7,6	5,9	5,5	6,2	6,7 ± 1,3
Hirse	82,2	88,9	89,5	102,2	94,4	91,4 ± 7,4
Hafer, geschält	5,8	3,4	2,4	2,0	2,4	3,2 ± 1,5

Der Zeitaufwand für die Zählung einer Futterprobe beträgt in Abhängigkeit von der Anzahl der Samenkomponten zwischen 10 und 20 Minuten, während bei der von DELPY (1980) beschriebenen Methode mehrere Stunden zur Auftrennung der Futterprobe notwendig sind.

Aus Tabelle XIV ist der Fehler ersichtlich, mit dem die Zählmethode behaftet ist. Angegeben ist der Fehlerbereich in Prozent in Abhängigkeit vom relativen Gehalt der jeweiligen Samenarten. Je kleiner der relative Gehalt, desto größer wird der Fehler, bei Gehalten unter 5 % steigt der Fehler bis auf 95 %.

Tab. XIV: Fehlerbereich (in %) für die Ermittlung der quantitativen Futterzusammensetzung in Abhängigkeit vom relativen Gehalt an diesen Bestandteilen

Gehalt an jew. Samenart (%)	Anzahl Proben	Fehlerbereich (%) Mittelwert $\pm$ s	Minimal- und Maximalwerte (%)
> 50	4	3,9 $\pm$ 3,8	2 - 19
31 - 50	4	7,9 $\pm$ 6,0	5 - 15
21 - 30	6	15,6 $\pm$ 6,7	12 - 48
11 - 20	6	19,6 $\pm$ 16,5	2 - 35
5 - 10	7	27,4 $\pm$ 26,5	6 - 47
< 5	8	27,0 $\pm$ 23,2	6 - 95

4.2. Chemische Untersuchung des Futterfettes auf Peroxid- und Säurezahl

In Tabelle XV finden sich die Ergebnisse der Peroxid- und Säurezahlbestimmung bei verschiedenen, unterschiedlich lange gelagerten Futtermischungen und Einzelsaaten. Zwischen nur wenige Wochen und über zwei Jahre lang gelagertem Futter bestanden für beide Werte in der Regel nur geringe Differenzen. Daher wurde versucht, durch unterschiedlich lange Bestrahlung mit ultravioletem Licht (PHILIPS TLD 18 W/08) von Futter bzw. Öl bei 40-42°C einen künstlichen Anstieg dieser Werte auszulösen.

Tab. XV: Ergebnisse der Peroxid- und Säurezahlbestimmung bei verschiedenen, unterschiedlich lange gelagerten Futtermischungen und Einzelsaaten

Laufende Futter-Nr.	Lagerungsdauer in Wochen	Peroxidzahl *	Säurezahl **
1	4	2,5	< 1
2	6	3,2	< 1
3	12	2,9	< 1
4	16	4,8	< 1
5	24	5,6	< 1
6	100	7,5	< 1

* ml verbrauchte 0,002 n Natriumthiosulfatlösung

* ml verbrauchte 0,5 n Kaliumhydroxidlösung

Die Ergebnisse können Tabelle XVI entnommen werden. Sie zeigen, daß die Peroxidzahlen in Abhängigkeit von der Be-

strahlungsdauer ansteigen und unter unseren Versuchsbedingungen nach etwa 35 Tagen Maximalwerte erreichten.

Tab. XVI: Ergebnisse der Peroxidzahlbestimmung in Futtermitteln und Ölen nach unterschiedlich langer Bestrahlung mit ultraviolettem Licht bei 40 - 42°C, angegeben in mg KOH/g Fett

Peroxidzahl nach Stunden bzw. Tagen	Papageienfutter- mischung	Leinsamen, gemahlen	Sonnenblumen- öl	Maiskeim- öl
8 Stunden	2,1	3,2	6,4	3,4
16 Stunden	3,2	3,6	22,0	11,2
32 Stunden	4,0	4,1	51,0	29,0
2 Tage	5,0	3,9	69,3	49,0
4 Tage	5,2	4,4	86,4	69,0
7 Tage	5,4	4,8	93,0	84,0
14 Tage	5,6	5,0	276,0	140,0
21 Tage	5,6	5,7	312,0	240,0
28 Tage	5,8	6,0	390,0	330,0
35 Tage	5,6	6,6	450,0	360,0
48 Tage	5,8	7,6	352,0	312,0
60 Tage	6,2	7,8	312,0	328,0

4.3. Frischekriterien

4.3.1. Keimfähigkeit

Die Keimfähigkeit verschiedener Einzelsaaten bei 20°C und 37°C ist aus Tabelle XVII zu ersehen. Danach war die durchschnittliche Keimfähigkeitsrate aller geprüften Saaten nach fünf Tagen bei 20°C doppelt so hoch als bei 37°C.

Ein Zusammenhang zwischen geringer Keimfähigkeit und Grad des Pilzbefalls konnte im statistischen Test nicht nachgewiesen werden.

Tab. XVII: Keimfähigkeit verschiedener Einzelsaaten nach 3 bzw. 5 Tagen bei 20°C * und 37°C **

Einzelsaat	Keimfähigkeit in %			
	bei 20°C		bei 37°C	
	nach 3 Tagen/ Verpilzung	nach 5 Tagen/ Verpilzung	nach 3 Tagen/ Verpilzung	nach 5 Tagen/ Verpilzung
Kanarienssat 1	43 / ++	85 / ++	3 / ++	4 / ++
Kanariensaat 2	50 / +	97 / +	1 / +	5 / +
Kanariensaat 3	67 / +	96 / +	0 / +	1 / +
Kanariensaat 4	32 / +	66 / +	0 / +	0 / +
Silberhirse 1	0 / +	84 / +	20 / +	80 / +
Silberhirse 2	6 / +	29 / +	70 / +	95 / +
Silberhirse 3	80 / +	86 / +	67 / ++	84 / ++
Weizen 1	0 / -	30 / -	0 / -	10 / -
Weizen 2	0 / +++	0 / +++	0 / +++	0 / +++
Weizen 3	80 / ++	100 / ++	60 / ++	60 / ++
Hafer 1	0 / +	0 / +	0 / -	0 / -
Hafer 2	0 / -	20 / -	0 / -	0 / -
Sonnenblumenkern 1	20 / +	100 / +	20 / -	40 / -
Sonnenblumenkern 2	0 / -	80 / -	60 / -	80 / -
durchschnittliche Keimfähigkeit	27,0 ± 31,5	62,4 ± 38,0	21,5 ± 29,0	32,8 ± 38,4

* 50 - 60 % Luftfeuchte

** 40 % Luftfeuchte

4.3.2. Löschpapierprobe

Die wie unter Abschnitt 3.4.2. beschrieben durchgeführte Löschpapierprobe brachte völlig uneinheitliche Ergebnisse, die in keinem erkennbaren Zusammenhang mit der Lagerungsdauer der Saaten standen. Vermutlich wegen der unterschiedlichen Größe der einzelnen Samenkörner sind mit dieser Methode keine reproduzierbaren Ergebnisse zu erzielen. Auf eine Darstellung der Ergebnisse wurde deshalb verzichtet.

4.4. Mikrobiologische Untersuchung des Futters

Die allgemeine Methodik der mikrobiologischen Futtermitteluntersuchung ist seit langem eingeführt (SCHMIDT, 1963; POHL, 1987), und es gibt international anerkannte Standardmethoden dazu (z. B. von der Internationalen Gesellschaft für Getreidechemie). Bei den hier durchgeführten Untersuchungen ging es daher lediglich um die Prüfung, ob diese Methodik auch für Vogelfuttersaaten geeignet ist. Bakterien- und Pilzzahlen sowie die Wiederholbarkeit der Bestimmung bei sechs verschiedenen Ziervogelfuttermischungen sind aus Tabelle XVIII zu ersehen. Zwischen Gußplattenverfahren und Ausspatelmethode ergaben sich keine signifikanten Unterschiede bei der Ermittlung der Gesamtkeimzahlen, so daß auf eine getrennte Darstellung der erzielten Ergebnisse verzichtet wurde.

Tab. XVIII: Ergebnisse zweier unabhängig voneinander durchgeführten Bakterien- und Pilzzahlbestimmungen bei verschiedenen Mischfuttern, berechnet pro Gramm Futtermittel

Probenart	Bakterienzahl/g Futter Werte bei 2 Messungen	Pilzzahl/g Futter Werte bei 2 Messungen
Wellensittichfutter A	$1,2 \times 10^5$	$6,5 \times 10^3$
	$1,8 \times 10^5$	$8,7 \times 10^3$
Wellensittichfutter B	$1,2 \times 10^6$	$1,3 \times 10^4$
	$1,5 \times 10^6$	$1,2 \times 10^4$
Kanarienfutter A	$4,4 \times 10^6$	$1,0 \times 10^4$
	$1,0 \times 10^6$	$7,2 \times 10^3$
Kanarienfutter B	$4,6 \times 10^5$	$1,4 \times 10^4$
	$6,8 \times 10^5$	$1,0 \times 10^4$
Exotenfutter	$1,0 \times 10^7$	$2,6 \times 10^4$
	$1,2 \times 10^7$	$2,9 \times 10^4$
Waldvogelfutter	$3,2 \times 10^6$	$2,5 \times 10^4$
	$2,8 \times 10^6$	$1,7 \times 10^4$

4.5. Toxikologische Untersuchung des Futters

4.5.1. Mykotoxikologische Untersuchungen

4.5.1.1. Salinenkrebstest

Tab. XIX: Einfluß verschiedener Futtermittel und Einzelsaaten auf die Absterberate von Salinenkrebslarven

Einzelssaten/ Futtermischungen	Absterberate in % nach 48 Stunden	Absterberate der un- behandelten Kontrollen
Mohn	100	5,5
Raps 1	100	3,8
Raps 2	100	7,5
Negersaat	14,3	9,5
Hanf	9,3	7,5
Leinsamen	8,8	9,5
Sonnenblumenkerne	4,2	7,5
Kanariensaat	0	5,5
Kanarienfutter 1 *	100	11,5
Kanarienfutter 2 **	100	3,8
Kanarienfutter 3 **	100	5,5
Kanarienfutter 4 **	100	5,5
Wellensittichfutter 1	11,5	7,5
Wellensittichfutter 2	15,4	6,3
Wellensittichfutter 3	6,5	9,5
Waldvogelfutter 1 **	100	11,5
Waldvogelfutter 2 **	100	6,3
Waldvogelfutter 3 **	100	3,8
Exotenfutter 1	87,5	6,3
Exotenfutter 2	15,4	3,8
Papageienfutter	71,0	6,3

* enthielt 30 % Raps und Mohn

** enthielt > 30 % Raps

Vor Bestimmung der 50 %igen Letaldosis (LD_{50}) von verschiedenen Mykotoxinen wurde der Einfluß toxinunverdächtigter Futtermischungen und Einzelsaaten auf die Absterberate der Salinenkrebslarven geprüft. Die Ergebnisse sind in Tabelle

XIX dargestellt. Daraus geht hervor, daß Raps- und Mohnextrakte sowie alle Extrakte rapshaltiger Mischfutterarten zu einer sehr hohen Absterberate führen, unter unseren Bedingungen zu Absterberaten von 100 %.

Die Dosis-Wirkungsbeziehungen (LD_{50}) von Mykotoxinstandards im *Artemia salina*-Test sind zusammen mit den Ergebnissen in Tracheal- und Zellkulturen in Tabelle XXIII aufgeführt.

Die LD_{50} der Salinenkrebslarven wurden über den Probit ermittelt, sie betragen für Aflatoxin B₁ 2,0 µg/ml Medium, für Ochratoxin A 5,6 µg/ml, für Zearalenon 1,6 mg/ml, für T 2-Toxin 0,04 µg/ml und für Diacetoxyscirpenol 0,06 µg/ml.

Zur Bestimmung der Wiederfindungsrate wurden einem handelsüblichen Ziervogelfutter, das sich im Salinenkrebstest als toxinunverdächtig erwiesen hatte, die zuvor genannten Mykotoxine in einer Konzentration von 8 mg/kg (Aflatoxin B₁, Ochratoxin A, T 2-Toxin, Diacetoxyscirpenol) bzw. 80 mg/kg (Zearalenon) zugefügt. Aus den Ergebnissen in Tabelle XX lassen sich jedoch keine eindeutigen Schlüsse für die Wiederfindungsrate ziehen.

Tab. XX: LD_{50} in µg/ml von verschiedenen Mykotoxinstandards und mit Mykotoxinstandards versetztem Futter* bei Salinenkrebslarven (Mittelwert aus je 3 unabhängigen Versuchsansätzen)

Mykotoxinstandards bzw. mit Mykotoxinstandards versetztes Futter	LD_{50} (in µg/ml)
Aflatoxin B ₁ - Standard	2,0
Futter mit Aflatoxin B ₁	3,5
Ochratoxin A - Standard	5,6
Futter mit Ochratoxin A	25,1
Zearalenon - Standard	1600,0
Futter mit Zearalenon	100,0
T 2-Toxin - Standard	0,04
Futter mit T 2-Toxin	0,03
Diacetoxyscirpenol - Standard	0,06
Futter mit Diacetoxyscirpenol	0,06

* Zusatz von 8 mg/kg Aflatoxin B₁, Ochratoxin A, T 2-Toxin und Diacetoxyscirpenol bzw. 80 mg/kg Zearalenon

4.5.1.2. Erbsenkeimung

Im Erbsenkeimungstest wurden Diacetoxyscirpenol und T 2-Toxin sowie Ochratoxin A in Konzentrationen von 0,25 bis 1 mg/kg auf ihre Phytotoxizität gegenüber dem Saatgut der Futtererbse untersucht. Jedoch konnte auch bei der Einwirkung der höchsten untersuchten Konzentrationen keine signifikante Hemmung der Erbsenkeimungsrate gegenüber unbehandelten Kontrollgruppen festgestellt werden.

Da andere biologische Methoden weitaus sicherere Nachweise von Mykotoxinen erlauben, wurde auf eine eingehendere Prüfung dieser Methode verzichtet.

4.5.1.3. Trachealkulturen

In Tabelle XXI werden die Ergebnisse der ziliostatischen Endpunktbestimmungen von Mykotoxinstandards und mit Mykotoxinstandards versetztem Futter im Erhaltungsmedium von Hühner- und Entenkükentrachealkulturen aufgeführt. Der Endpunkt der ziliostatischen Dosis für Aflatoxin B₁, Ochratoxin A, T 2-Toxin, Diacetoxyscirpenol und Zearalenon kann dort abgelesen werden.

In Tabelle XXIII werden die ziliostatischen Endpunkte den entsprechenden Ergebnissen in Zellkulturen und den LD₅₀ im Salinenkrebstest gesondert gegenübergestellt.

Die Wiederfindungsraten der zugesetzten Mykotoxinstandards betrug im allgemeinen 50 %, ausgenommen Zearalenon, wo dieser Wert 100 % überstieg, was möglicherweise auf die Extraktion weiterer toxischer Substanzen in diesen Proben schließen läßt.

Tab. XXI: Ziliostatische Endpunktbestimmung von Mykotoxin-standards und mit Mykotoxinstandards versetztem Futter* in Trachealkulturen

Mykotoxinstandards bzw. mit Mykotoxinstandards versetztes Futter	Ziliostatischer Endpunkt in µg/ml	
	Hühnertrachealkulturen n=4; Mittelwert ± σ	Ententrachealkulturen n=4; Mittelwert ± σ
Aflatoxin B ₁ - Standard	0,125 ± 0	0,0008 ± 0,0003
Futter mit Aflatoxin B ₁	0,440 ± 0,125	0,001 ± 0
Wiederfindung	25 %	25 %
Ochratoxin A - Standard	0,033 ± 0	0,065 ± 0
Futter mit Ochratoxin A	0,125 ± 0	0,25 ± 0,22
Wiederfindung	25 %	25 %
Zearalenon - Standard	32,5 ± 8,7	7,5 ± 2,9
Futter mit Zearalenon	8,75 ± 2,5	6,9 ± 3,8
Wiederfindung	> 100 %	> 100 %
T 2-Toxin - Standard	0,005 ± 0,003	0,05 ± 0,02
Futter mit T 2-Toxin	0,012 ± 0,005	0,05 ± 0,02
Wiederfindung	50 %	100 %
Diacetoxyscirpenol - Standard	0,012 ± 0,005	0,013 ± 0,005
Futter mit Diacetoxyscirpenol	0,033 ± 0	0,019 ± 0,07
Wiederfindung	50 %	50 %

* wie bei Tab. XX

4.5.1.4. Zellkulturen

Die zytotoxischen Endpunkte von Aflatoxin B₁, Ochratoxin A, T 2-Toxin, Diacetoxyscirpenol und Zearalenon in primären Hühnerembryofibroblasten-, Hühnerembryoleberzell-, Hühnerembryonierenzell- und Entenkükenleberzellkulturen können aus Tabelle XXII ersehen werden. Diese Werte sind in Tabelle XXIII den Ergebnissen in Trachealkulturen und im Salinenkrebstest gesondert gegenübergestellt.

Die Wiederfindungsrate der zugesetzten Mykotoxinstandards betrug 25 bis 100 %, von wenigen Ausnahmen abgesehen.

Tab. XXII: Zytotoxische Endpunktbestimmung von Mykotoxin-standards und mit Mykotoxinstandards versetztem Futter* in primären Zellkulturen

Mykotoxinstandards bzw. mit Mykotoxinstandards versetztes Futter	Zytotoxischer Endpunkt in µg/ml			
	HEF	HEL	HEN	EKN
Aflatoxin B ₁ - Standard	6,6 ± 0	0,1 ± 0	0,6 ± 0,5	0,008 ± 0
Futter mit Aflatoxin B ₁	6,8 ± 0	0,25 ± 0,1	1,6 ± 0	0,065 ± 0
Wiederfindung	100 %	50 %	25 %	25 %
Ochratoxin A - Standard	3,3 ± 0	2,6 ± 1,0	1,9 ± 1,6	0,5 ± 0
Futter mit Ochratoxin A	3,3 ± 0	1,2 ± 0,5	1,3 ± 0,3	0,5 ± 0
Wiederfindung	100 %	-	-	100 %
Zearalenon - Standard	25,0 ± 11,8	50,0 ± 19,2	10,0 ± 0	10,0 ± 0
Futter mit Zearalenon	12,5 ± 5,9	66,66 ± 0	66,66 ± 0	5,0 ± 0
Wiederfindung	-	75 %	16 %	-
T 2-Toxin - Standard	0,02 ± 0,01	0,006 ± 0,002	0,04 ± 0,02	0,002 ± 0
Futter mit T 2-Toxin	0,033 ± 0,02	0,01 ± 0,004	0,13 ± 0,09	0,006 ± 0,002
Wiederfindung	50 %	50 %	12,5 %	30 %
Diacetoxyscirpenol - Standard	0,045 ± 0,02	0,01 ± 0,007	0,025 ± 0,01	0,004 ± 0
Futter mit Diacetoxyscirpenol	0,05 ± 0,02	0,05 ± 0,02	0,25 ± 0,2	0,016 ± 0
Wiederfindung	100 %	25 %	10 %	25 %

* wie bei Tab. XX

Tab. XXIII: Vergleich der ziliostatischen bzw. zytotoxischen Endpunkte und der LD₅₀ verschiedener Mykotoxinstandards in Trachealkulturen bzw. primären Zellkulturen und im Salinenkrebstest (in µg/ml)

Mykotoxinstandards	Trachealkulturen		Zellkulturen				Salinenkrebstest
	Hühner- küken	Enten- küken	HEF	HEL	HEN	EKN	
Aflatoxin B ₁	0,125	0,0008	6,6	0,1	0,6	0,008	2,0
Ochratoxin A	0,033	0,065	3,3	2,6	1,9	0,5	5,6
Zearalenon	32,5	7,5	25,0	50,0	10,0	10,0	1600
T 2-Toxin	0,005	0,05	0,02	0,006	0,04	0,002	0,04
Diacetoxyscirpenol	0,012	0,013	0,045	0,01	0,025	0,004	0,06

Abkürzungen: HEF = Hühnerembryofibroblasten
HEL = Hühnerembryoleberzellen
HEN = Hühnerembryonierenzellen
EKN = Entenkükenierenzellen

4.5.2. Prüfung auf Pestizidrückstände

Verschiedene Pestizide, die unter Umständen auf Vogelfuttersaaten zu erwarten sind, wie Endrin, Dieldrin, DDT, Lindan, Aldrin, HCB und Cumarin wurden in Konzentrationen von 0,00006 bis 5 mg/kg bzw. l/Medium auf ihre ziliostatische bzw. zytotoxische Wirkung in Hühnerküekentrachealzellkulturen und Hühnerzellkulturen (Embryofibroblasten, -leberzellen, -nierenzellen) geprüft. Alle untersuchten Stoffe erwiesen sich in den gewählten Verdünnungen jedoch nicht als ziliostatisch oder zytotoxisch.

5. DISKUSSION

Zweck der vorliegenden Arbeit war die Prüfung bereits beschriebener und die Erarbeitung neuer Methoden für die qualitative und quantitative Analyse von Ziervogelfutter.

Bei der Auswahl der Methoden konzentrierten wir uns auf solche, die den Möglichkeiten eines größeren tierärztlichen Labors am besten entsprachen und eine sinnvolle und finanziell tragbare Untersuchung möglich erscheinen ließen. Dazu gehören die sensorische Analyse einschließlich der Identifizierung der Futterbestandteile, die Prüfung der Keimfähigkeit, die bei anderen Futtermitteln seit langem (SCHMIDT, 1963) eingeführte mikrobiologische Untersuchung, die Peroxid- und Säurezahlbestimmung zum Nachweis von Fettranzigkeit und bakterieller Fettverderbnis sowie auch der Nachweis einer allgemeinen biologischen Unbedenklichkeit. Bei der letztgenannten Frage sollten vor allem biologische Screeningverfahren für Mykotoxine auf ihre spezielle Eignung für Vogelfutter geprüft werden.

Für die Technik der Samenidentifizierung sind die Angaben und Abbildungen von TOLLEFSON (1982) hilfreich. Da aber eine Reihe wichtiger Samen dort fehlen, wurden die am häufigsten in Vogelfutter vorkommenden Samenarten in eigenen Abbildungen im Anhang zusammengefaßt. Bei der Beurteilung der qualitativen Futterzusammensetzung entspricht das Fehlen fettreicher Samen (wie Raps, Hanf, Negersaat oder Leinsamen) in zwei Handelsfuttermitteln für Wellensittiche nicht den Empfehlungen mehrerer Autoren (RUTGERS, 1968; MULLER, 1978; SCHULTZ, 1981; AECKERLEIN, 1986). Auch überrascht der Zusatz von Weizen bei einem Futter für Kanarienvögel. In Anbetracht der geringen Zahl der untersuchten Futterproben ist jedoch keine Schlußfolgerung möglich.

Eine genauere Unterscheidung verschiedenfarbiger Samenarten erwies sich bei der Ermittlung der quantitativen Futterzu-

sammensetzung in der Regel als zu zeitraubend, so z. B. bei Hirse (weiße, gelbe, rote Sorten, Japan-, Senegal-, Manna-hirse) oder beim Raps (dunkelbraune, blauschwarze, schwarze Sorten). Eine grobe Schätzung des prozentualen Anteils der verschiedenen Bestandteile in Mischfuttern war mit akzeptabler Wiederholbarkeit möglich, wenn der Anteil über etwa 10 % lag (Tabelle XIII/XIV). Um diesen Anteil nach der in Abschnitt 3.2.2.2. angegebenen Formel berechnen zu können, braucht man zuerst die durchschnittlichen Samengewichte, wie sie in Tabelle XII angegeben sind. Ob diese Werte aus Tabelle XII grundsätzliche Gültigkeit haben, müßte in umfangreicheren Untersuchungen noch geklärt werden. Gewisse Schwankungen in Abhängigkeit von Frischegrad, Erntejahr, Sorte und Ursprungsland der Komponenten sind wohl zu erwarten.

Bei der Berechnung von Rationen für Vögel aufgrund der in Tabelle II angegebenen Nährstoffgehalte von verschiedenen Samenarten sind insbesondere die Futteraufnahmegewohnheiten der verschiedenen Vogelarten zu berücksichtigen. Eine Rohnnährstoffanalyse ist wegen der selektiven Futteraufnahme der Vögel wenig hilfreich. Die angegebenen Werte gelten in der Regel für ganze Samen, viele Vögel enthülsen aber die Körner vor dem Verzehr, so daß es zu Änderungen im Nährstoffgehalt kommen kann.

Die Keimfähigkeit läßt sich nach den Ergebnissen aus Tabelle XVII am besten bei 20°C und nach einer Ablesungszeit von fünf Tagen beurteilen. Diese Zeit entspricht in etwa auch den von Vogelzüchtern verwendeten Verfahren für die Herstellung von Keimfutter. Ein denkbarer Zusammenhang zwischen Grad des Pilzbefalles und Keimungsrate konnte nicht nachgewiesen werden.

Die Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchung auf Bakterien und Pilze bestätigten, daß die bei anderen Futtermitteln bereits bewährten Methoden (SCHMIDT, 1963; POHL,

1987) grundsätzlich auch bei Vogelfutter anwendbar sind. Dabei scheint die Spatelmethode gegenüber dem Gußplattenverfahren Vorteile aufzuweisen, denn sie ist ebenso zuverlässig (Tabelle XVIII), aber einfacher zu handhaben. Eine weitere erprobte Vereinfachung der Spatelmethode ist das Dropplateverfahren, das aber nicht gesondert geprüft wurde. Bei diesem sehr materialsparenden Verfahren werden auf einer einzigen Agarplatte je 0,05 ml verschiedener Verdünnungen von einer Futtermittelsuspension aufgetropft und die nach einem Tag angewachsenen Kolonien gezählt.

Auch bei der mikrobiologischen Untersuchung von Vogelfutter muß in größer angelegten Versuchsreihen erst noch geklärt werden, welche Bakterien- und Pilzzahlen als unbedenklich gelten können und ob für Vogelfutter ähnliche Werte wie bei der Beurteilung von anderen Futtermitteln zu Grunde gelegt werden können. Die von verschiedenen Autoren angegebenen Grenzwerte für normalen Keimgehalt schwanken allerdings in Bereichen von 1 bis 6×10^6 Bakterien und 1 bis 8×10^4 Pilzsporen pro Gramm Futtermittel (SCHMIDT, 1963; GEDEK, 1973; WIRTH, 1978). Bei der mikrobiologischen Beurteilung der Futtermittel muß neben der Keimzahl allerdings auch die systematische Zugehörigkeit der dominant darin anzutreffenden Bakterien und Pilze berücksichtigt werden (GEDEK, 1973). Das Vorherrschen einer bestimmten Keimart deutet nach FLATSCHER und WILLINGER (1981) eher auf einen Verderb des Futters hin, als ein breites Spektrum von Keimarten, auch wenn diese Mikroorganismen in höheren Zahlen vorliegen.

Die chemische Untersuchung zur Bestimmung der Peroxid- und Säurezahl als Indikator für Fettranzigkeit bzw. bakterielle Fettverderbnis brachte unter unseren Bedingungen keine Ergebnisse, die den routinemäßigen Einsatz dieser Methoden rechtfertigen würden. Die bei sehr langer Lagerung von Futter erreichten Peroxidzahlen (Tabelle XV) waren zwar deutlich höher als bei kurzer Lagerung, jedoch noch immer unter

der für Fettranzigkeit angegebenen Peroxidzahl von 10 (NIESAR, 1961). Die Säurezahl lag bei allen untersuchten Futtermitteln unterhalb des Meßbereiches von 1. Nach längerer UV-Lichtbestrahlung bei 40 bis 42°C stieg die Peroxidzahl zwar erwartungsgemäß steil an und erreichte nach 35 Tagen offenbar Maximalwerte (Tabelle XVI), eine derart extreme Licht- und Wärmeeinwirkung erscheint jedoch unter mitteleuropäischen Verhältnissen wenig wahrscheinlich. Die Peroxidzahl ist nach MENKE und HUSS (1980) auch nur mit der gleichzeitig ermittelten Säurezahl aussagekräftig, denn bei längerer Fettlagerung sinkt die Peroxidzahl wieder, während die Säurezahl als Ausdruck insbesondere der bakteriellen Fettverderbnis steigt (WIESNER, 1970). Derartige Verhältnisse konnten wir künstlich nicht auslösen, da bei der UV-Bestrahlung auch gleichzeitig eine Sterilisierung des Futters stattfand. Weiterhin ist zu berücksichtigen, daß nur bei entsprechend hohen Fettgehalten im Futter Schadwirkungen durch verdorbenes Fett bei den Ziervögeln zu erwarten sind.

Die Methodik der mykotoxikologischen Futtermitteluntersuchung nahm in dieser Arbeit einen breiten Raum ein. Dabei ging es nicht um die Analyse einzelner Toxine, sondern um ein unter den Verhältnissen eines tierärztlichen Labors geeignetes Screeningverfahren. Wir konzentrierten uns auf zwei biologische Verfahren, den von MÜLLER und LEPOM (1985), DAU NGOC HAO (1986) und anderen zitierten Salinenkrebstest sowie Tracheal- und Zellkulturen von Hühner- und Entenküken, deren Verwendung zum Nachweis von Mykotoxinen auch bereits von anderen Untersuchern (NAIR et al., 1970; COLWELL et al., 1973) beschrieben wurde. Auf den von MÜLLER (1986) beschriebenen Erbsenkeimungstest zum Nachweis von Trichothecenen wurde bald verzichtet, da die Ergebnisse mit verschiedenen Mykotoxinstandards nicht interpretierbar waren.

Der Salinenkrebstest wurde verschiedentlich als sehr nützlich zum Nachweis von Anästhetika (ROBINSON et al., 1965), Insektiziden (MICHAEL et al., 1956; GROSCHE, 1967) und Mykotoxinen (BROWN et al., 1968; HARWIG und SCOTT, 1971; MÜLLER und LEPOM, 1985; DAU NGOC HAO, 1986) beschrieben. Für Vogelfutter scheint er sich weniger gut zu eignen, denn toxinunverdächtige Extrakte aus Raps und Mohn führten zu einem regelmäßigen Absterben aller (100 %) damit untersuchten Salinenkrebslarven. Beim Raps vermuten wir, daß die bekannten Senfölglykoside (BECKER und NEHRING, 1965; LINDNER, 1986) für dieses Absterben verantwortlich sind, beim Mohn möglicherweise die zahlreichen Alkaloide (STÄHLIN, 1957). Eine weitere Möglichkeit wäre eine Insektizidbehandlung der untersuchten Saaten, da Salinenkrebse auch auf diese Substanzen ansprechen. Da Raps in Kanarien- und Waldvogelfutter üblicherweise in größeren Mengen vorhanden ist (Tabelle VII bis XI), müßte der Rapsanteil vor Futterextraktion für den Salinenkrebstest erst entfernt werden, was umständlich wäre. Außerdem ist die Empfindlichkeit des Salinenkrebstestes deutlich niedriger als die der Tracheal- und Zellkulturen (Tabelle XXIII) und in der Einfachheit der Handhabung letzteren ebenfalls unterlegen.

Tracheal- und Zellkulturen erweisen sich als hochempfindlich für verschiedene Mykotoxine, wobei sich für Aflatoxin B₁ Entenkükentracheal- und Entenkükennierenzellkulturen, für Ochratoxin A Hühner- und Ententrachealkulturen, für T₂-Toxin Entenkükennierenzell-, Hühnerkükentracheal- und Hühnerembryoleberzellkulturen und für Diacetoxyscirpenol Entenkükennierenzellkulturen und Trachealkulturen von Hühner- und Entenküken am besten zu eignen scheinen (Tabelle XXIII). Für Zearalenon waren diese Systeme kaum empfänglich.

Die hohe Empfindlichkeit von Entenkükentracheal- und Entenkükennierenzellkulturen gegen Aflatoxin B₁ ist dabei von besonderem Interesse, weil nach BUTLER (1987) Ziervögel mit

diesem Mykotoxin über das Futter besonders leicht in Berührung kommen können.

Auch eine Reihe von Insektiziden und Pflanzenschutzmitteln sowie Cumarin in Konzentrationen bis ca. 5 ppm (Abschnitt 4.5.2.) zeigten diese beiden Systeme nicht an. Hier muß nach anderen Verfahren gesucht werden. Zur allgemeinen biologischen Verträglichkeit und insbesondere zum Nachweis von Mykotoxinen eignen sich Tracheal- und Zellkulturen von Hühner- und Entenküken jedoch besonders gut.

Mit der allgemeinen sensorischen, mit der Keimprobe, mit der mikrobiologischen und mykotoxikologischen Untersuchung stehen daher Methoden zur Verfügung, mit denen Futterzustand und biologische Verträglichkeit geprüft werden können. Bei den hier eingesetzten Verfahren betrug der Kostenaufwand einer Futteruntersuchung 15 bis 20 DM, was beim Handelswert der gängigen Ziervogelarten angemessen scheint.

6. ZUSAMMENFASSUNG

Es wurde die Eignung verschiedener, für ein diagnostisches tierärztliches Labor durchführbarer Methoden zur qualitativen und quantitativen Analyse von Ziervogelfutter geprüft. Zu diesen Methoden gehörte die sensorische Analyse einschließlich Identifizierung der Futterbestandteile, die Keimfähigkeit, die mikrobiologische Untersuchung, die Peroxid- und Säurezahlbestimmung sowie der Einfluß von Futtermittelsextrakten auf die Absterberate von Salinenkrebse und auf Tracheal- und Zellkulturen von Enten- und Hühnerküken.

Die Bestimmung der Keimfähigkeit bei 20°C mit Ablesung nach fünf Tagen ist der Bestimmung bei 37°C vorzuziehen. Eine grobe quantitative Analyse der verschiedenen Mischfutterbestandteile war möglich, wenn deren Anteil über 10 % lag. Bei sechs handelsüblichen Futtermischungen für Ziervogel schwankte die mittlere Bakterienzahl zwischen $4,2 \times 10^4$ und $1,1 \times 10^7$ Bakterien und die mittlere Pilzzahl zwischen $7,6 \times 10^3$ und $2,8 \times 10^4$ Pilzen pro Gramm Futter.

Die Peroxidzahl lag auch bei stark überlagertem Futter stets unter 10 Milliäquivalenten peroxydisch gebundenen Sauerstoffs/kg Fett, die als Grenzwert für die Ranzigkeit angesehen wird, und die Säurezahl lag immer unterhalb der unteren Empfindlichkeitsgrenze von 1 mg KOH/g Fett. Diese beiden chemischen Untersuchungen werden daher nicht für die routinemäßige Anwendung bei der qualitativen Analyse von Vogelfutter empfohlen.

Auch der Salinenkrebstest eignet sich für Vogelfutter nur bedingt. Extrakte aus Raps und Mohn bewirken eine Absterberate von 100 %, so daß sie zuvor aus dem zu untersuchenden Futter entfernt werden müßten. Der Salinenkrebstest zeigte jedoch eine deutliche Empfindlichkeit gegenüber Aflatoxin B₁, Ochratoxin A, T 2-Toxin und Diacetoxyscirpenol, bei einer LD₅₀ von 2,0; 5,6; 0,04 bzw. 0,06 µg/ml. Tracheal- und Zellkulturen von Hühner- und Entenküken waren mit ihren

Nachweisgrenzen von 0,0008; 0,03; 0,002 bzw. 0,004 µg/ml jedoch wesentlich empfindlicher. Die Empfindlichkeit sowohl der Salinenkrebslarven als auch der Tracheal- und Zellkulturen gegen Zearalenon war mit 1600 bzw. 7,5 µg/ml gering. Pestizide und Cumarin waren in Konzentrationen bis zu etwa 5 mg/kg bzw. 1 gegenüber Tracheal- und Zellkulturen von Hühner- und Entenküken unwirksam.

Mit der sensorischen und mikrobiologischen Untersuchung, mit der Keimprobe und mit der Prüfung von Futterextrakten in Tracheal- und Zellkulturen stehen geeignete Methoden zur Abschätzung möglicher Schadwirkungen über qualitative und quantitative Beurteilung des Frischzustandes und eventueller Belastungen mit mikrobiellen Toxinen, insbesondere Mykotoxinen zur Verfügung.

SUMMARY

Testing of simple examination methods for the evaluation of biological adverse effect of pet bird feed in veterinary diagnostic laboratories

Several methods, suitable for veterinary diagnostic laboratories, for the qualitative and quantitative analysis of pet bird seed mixtures were investigated, including sensorial analysis with identification of seed ingredients, germination rate, microbiological examination, peroxide number and FFA (free fatty acids) as well as the effect of seed extracts on the survival rate of brine shrimp larvae and tracheal organ and cell cultures from ducklings and chick embryos.

The establishment of the germination rate at 20°C after five days is better than at 37°C. A crude quantitative analysis of seeds contained in the mixture was possible if its content exceeded 10 %. The microbiological examination of six commercial pet bird seed mixtures resulted in mean

counts of $4,2 \times 10^4$ to $1,1 \times 10^7$ bacteria and $7,6 \times 10^3$ to $2,8 \times 10^4$ fungi per gram feed.

The peroxide number of feed even after excessively long storage never exceeded 10 milliequivalents O_2/kg fat, the accepted threshold for fat rancidity, and the FFA-value was always below the lowest measurable level of 1 mg KOH/g fat. Therefore, these two tests are not recommended for routine use for the qualitative analysis of pet bird seed mixtures. The brine shrimp larvae test is only useful after removal of rape and poppy seeds because both cause 100 % mortality of the larvae. On the other hand, this test shows considerable susceptibility to aflatoxin B_1 , ochratoxin A, T 2-toxin and diacetoxyscirpenole, with a LD_{50} of 2,0; 5,6; 0,04 resp. 0,06 $\mu g/ml$. Tracheal organ and cell cultures were more sensitive, with detectability levels of 0,0008; 0,03; 0,002 resp. 0,004 $\mu g/ml$. The LD_{50} of zearalenone in brine shrimp larvae was 1600 $\mu g/ml$, the endpoint in duckling tracheal organ cultures 7,5 $\mu g/ml$. Tracheal organ and cell cultures were not susceptible to pesticide and coumarin concentrations of approx. 5 mg/l medium.

The sensorial and microbiological examination, germination rate and the effect of seed extracts on tracheal organ and cell cultures are suitable methods for a simple and inexpensive qualitative and quantitative evaluations of the quality of seed mixtures for pet birds and its possibly contamination by microbial toxins, such as mycotoxins.

7. ANHANG

Abbildungen zu Tabelle I (Seite 10 ff)
ein Teilstrich = 1 mm

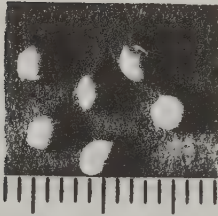


Abb. 1

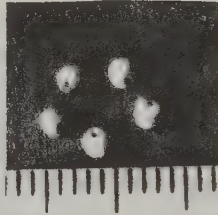


Abb. 2

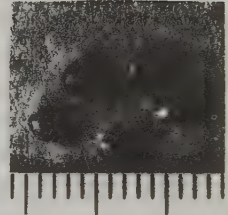


Abb. 3

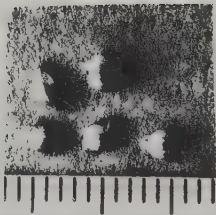


Abb. 4

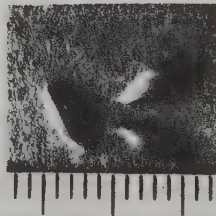


Abb. 5

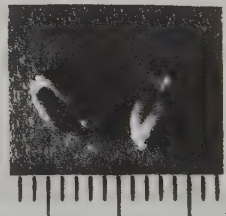


Abb. 6

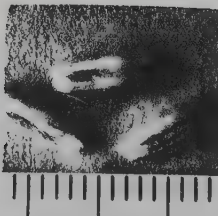


Abb. 7

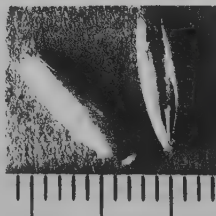


Abb. 8

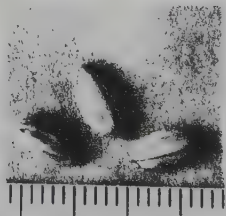


Abb. 9

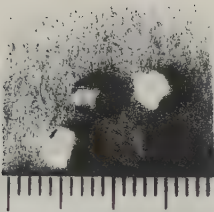


Abb. 10

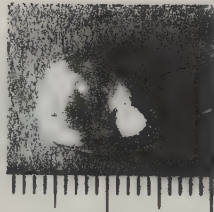


Abb. 11

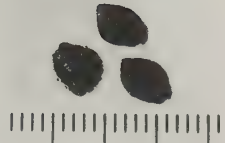


Abb. 12

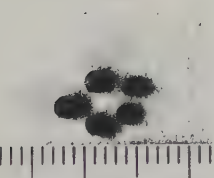


Abb. 13



Abb. 14



Abb. 15



Abb. 16



Abb. 17



Abb. 18

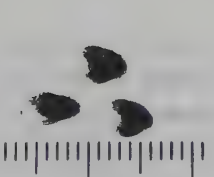


Abb. 19



Abb. 20



Abb. 21

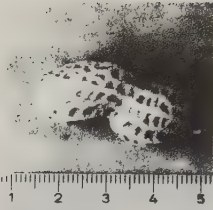


Abb. 22



Abb. 23



Abb. 24



Abb. 25

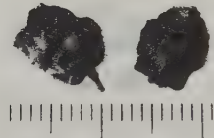


Abb. 26

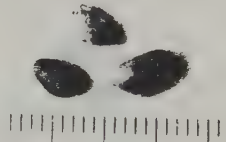


Abb. 27

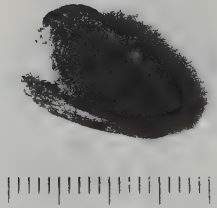


Abb. 28

8. LITERATURVERZEICHNIS

Aeckerlein, W. (1986):

Die Ernährung des Vogels

Ulmer, Stuttgart

Anonym (1984):

Sechssämerbote, Wunsiedel, 18.04.1984

zitiert nach Kösters, J.; Jacoby, J.R. (1986)

Anonym (o.J.):

Fachinformation für Züchter und Verbraucher der Heim-
tierfutterfirma Dacapo

Nungesser Saaten K.G., Darmstadt

Arnall, L.; Keymer, I.F. (1975):

Bird Diseases

T.F.H. Publications, Neptune City, USA

Bassir, O.; Adekunle, A. (1970):

Pathological effects: teratogenicity

in: Heathcote, J.G.; Hibbert, J.R., eds. (1978):

Aflatoxins: chemical and biological aspects, 92

Elsevier Scientific Publ. Co., Amsterdam - New York

Bauer, J. (1980):

Zur Leistungsfähigkeit mykotoxikologischer Untersu-
chungsmethoden

Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 93, 354-359

Bauer, J. (1982):

Mykotoxikosen in der tierischen Produktion - Bedeutung
und Diagnose (eine Übersicht)

Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 95, 301-307

Bauer, J.; Gedek, B. (1978):

Mykotoxikosen beim Schwein
Prakt. Tierarzt 59, 780-785

Becker, M.; Nehring, K. (1965):

Handbuch der Futtermittel, 2. Band
Parey, Berlin - Hamburg

Behringer, J. (1972):

Eignung des Hühnerembryotests für den Nachweis von
Mykotoxinen
Vet. Med. Diss. Universität München

Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (1984):

Krio, N.R.; Holt, J.G., eds.
Williams & Wilkins, Baltimore/London

Bice, C.W. (1956):

Observations on budgie feeding
in: Petrak, M.L., ed. (1982):
Diseases of cage and aviary birds, 233
Lea & Febiger, Philadelphia, USA

Bielan, W.-D. (1973):

Zur Methodik der mikrobiologischen Mischfuttermittel-
untersuchung - der Einfluß eines einfachen Aufschwem-
mens und Stehenlassens einer Futterprobe vor dem
Schütteln auf die Schüttelnotwendigkeit und den Keim-
nachweis
Vet. Med. Diss. FU Berlin

Bock, R.R.; Shore, L.S.; Samberg, Y.; Perl, S. (1986):

Death in broiler breeders due to salpingitis: possible
role of zearalenone
Avian Pathol. 15, 495-502

Bösenberg, H. (1970):

Untersuchungen über den Nachweis von Aflatoxinen
Arzneimittel-Forsch. 20, 1. Mitteil. 1157-1167
2. Mitteil. 1521-1528

Brown, R.F.; Wildman, J.D.; Eppley, R.M. (1968):

Temperature-dose relationship with aflatoxin on the
brine shrimp *Artemia salina*
J. Ass. off. analyt. Chem. 51, 905-906
zitiert nach Behringer, J. (1972)

Brown, T.P.; Manning, R.O.; Fletcher, O.J.; Wyatt, R.D.
(1985):

The individual and combined effects of Citrinin and
Ochratoxin A on renal ultrastructure in layer chicks
Avian Dis. 30, 191-195

Butler, R. (1987):

Toxic conditions
in: Burr, E.W., ed. (1987)
Companion Bird Medicine, 226
Iowa State University Press, USA

Cole, R.J. (1972):

Tremorgenic Mycotoxins
in: Rodricks, J.V.; Hesselstine, C.W.; Mehlmann, M.A.,
eds. (1977):
Mycotoxins in human and animal health, 583
Pathotox Publ. Inc., Park Forest South, Illinois, USA

Colwell, W.M.; Ashley, R.C.; Simmons, D.G.; Hamilton, P.B.
(1973):

The relative in vitro sensitivity of Aflatoxin B₁ in
tracheal organ cultures, prepared from day-old ducks,
chickens, Japanese Quails and turkeys
Avian Dis. 17, 166-172

Dau ngoc Hao (1986):

Nachweis von Mykotoxinen mit biologischen Methoden
Vet. Med. Diss. Humboldt Universität Berlin

Decaesstecker, M.; Charilier, G.; Meulemans, G. (1986):

Significance of Parvoviruses, Enteroviruses and
Reoviruses in the aetiology of the chicken malabsorp-
tion syndrome

Avian Pathol. 15, 769-782

Delpy, K.H. (1980):

Ziervogelernährung, 60

Lehrmeisterbücherei Nr. 828, Philler, Minden

Dirks, C. (1978):

Mikrobiologische Futtermitteluntersuchungen

Tierärztl. Umschau 33, 217-222

Dolphin, R.E. (1987):

Feeding and nutritional disorders

in: Burr, E.W., ed. (1987)

Companion Bird Medicine, 66

Iowa State University Press, USA

Dorrestein, G.M.; Lustig, C.P.; Verweg, C.G. (1982):

Ernährung der Papageien

in Gabrisch, K.; Zwart, P., Hrsg. (1984):

Krankheiten der Heimtiere, 151

Schlütersche Verlagsanstalt, Hannover

Dwivedi, P.; Burns, R.B. (1985):

Immunosuppressive effects of Ochratoxin A in young
turkeys

Avian Pathol. 14, 213-225

Eggert, U.; Werkmeister, K.; Wolk, H. (1983):

BBE Haushaltsreport 1983, Marktbericht Heimtier-Zubehör, Band I, BBE Unternehmensberatung, Köln
zitiert nach Kösters, J.; Jacoby, J.R. (1986)

Eppley, R.M. (1974):

Sensitivity of brine shrimp (*Artemia salina*) to tricothecenes
J. of the AOAC 57, 618-620

Ferrando, R.; Murhty, T.R.K.; Henry, N. (1975):

Aflatoxicose et carence en vitamine D₃ chez le caneton
Revue Méd. vét. 126, 1259-1263

Flatscher, J.; Willinger, H. (1981):

Bakterien- und Pilzkeimzahlen in Futtermitteln
Wien. Tierärztl. Mschr. 68, 282-284

Frank, H.K. (1970):

Vorkommen und Nachweis von Mykotoxinen
Zbl. Bakt. I, Orig. 212, 216-221

Forgacs, J.; Koch, H.; Carll, W.T.; White-Stevens, R.H. (1958):

Additional studies on the relationship of mycotoxico-
ses to the poultry haemorrhagic syndrome
Americ. J. Vet. Res. 19, 744-753
zitiert nach Behringer, J. (1972)

Fun Sun Chu (1984):

Immunoassays for analysis of mycotoxins
Journal of Food Protection 47, 562-569

Gedek, B. (1972):

Biologischer Nachweis von Mykotoxinen
Zbl. Vet. Med. B 19, 15-32

Gedek, B. (1973):

Futtermittelveerderb durch Bakterien und seine nachteiligen Folgen

Übers. Tierernähr. 1, 45-56

Gedek, B. (1974):

Möglichkeiten und Grenzen der mikrobiologischen Futtermittelkontrolle

Dtsch. Tierärztl. Wschr. 81, 29-52

Gedek, B. (1980):

Kompodium der medizinischen Mykologie

Pareys Studentexte Nr. 25, Hamburg-Berlin

Gedek, B. (1980a):

Pilzkrankheiten der Haustiere - eine Übersicht

Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 93, 321-327

Gedek, B.; Kahlau, I.D. (1975):

Aktuelles und Neues über Mykotoxine im Futter

Kongreßberichte XX. Welttierärztekongreß, Thessalonika 2, 1218-1219

zitiert nach Bauer, J.; Gedek, B. (1978)

Gedek, B.; Hüttner, B.; Kahlau, I.D.; Köhler, H.; Vielitz E. (1978):

Rachitis bei Mastgeflügel durch Kontamination des Futters mit *Fusarium moniliforme* Sheldon, 1. Mitteilung
Feldbeobachtungen, Reproduktion des Krankheitsbildes
und Behandlungsversuche

Zentbl. Vet. Med. B 25, 29-44

Geissler, H.; Kösters, J. (1972):

Die hygienische Bedeutung des Getreideschimmelkäfers (*Alphitobius diaperinus* Panz.) in der Geflügelmast

Dtsch. Tierärztl. Wschr. 79, 178-181

Gerlach, H. (1979):

Diagnose der Pseudotuberkulose bei lebenden Vögeln
Referat bei der Tagung: "Krankheiten der Vögel"
München, 7.-8. März 1979, 96-101
Dtsch. vet.med. Gesellschaft e.V., Fachgruppe Geflügel

Giambrone, J.J.; Partradiredja, M.; Eidson, C.S.; Kleven,
S.H.; Wyatt, R.D. (1978):

Interaction of aflatoxin with Infectious Bursal Di-
sease virus infection in young chickens
Avian Dis. 22, 431-433

Greenham, L.W.; Harber, C.; Lewis E.; Scullion, F. (1987):
Clostridium perfringens in pelleted feed
Vet. Record 120, 557

Grosch, D.S. (1967):

Poisoning with DDT Effect on reproductive performance
of Artemia
Science 155, 592-593
zitiert nach Behringer, J. (1972)

Hacker, P. (1988):

Fa. Animedia
persönliche Mitteilung

Halama, A.K. (1981):

Mykotoxisch bedingte Störungen der Skelettmineralisa-
tion bei Jungmasthühnern
Wien. Tierärztl. Mschr. 68, 196-200

Hamilton, P.B. (1984):

Mykotoxine und Geflügel
Lohmann Information, Juli/August 1984, 1-4

Harwig, J. (1974):

Ochratoxin A and related metabolites

in: Purchase, I.F.H., ed. (1974):

Mycotoxins, 362

Elsevier Scientific Publ. Co., Amsterdam - New York

Harwig, J.; Scott, P.M. (1971):

Brine shrimp (*Artemia salina* L.) larvae as a screening system for fungal toxins

Appl. Microbiol. 21, 1011-1016

zitiert nach Dau ngoc hao

Hertrampf, B. (1984):

Mykotoxikosen beim Schwein

Prakt. Tierarzt 65, 30-43

Hintikka, E.L. (1977):

Stachybotryotoxicosis as a veterinary problem

in: Rodricks, J.V.; Hesseltine, C.W.; Mehlmann, M.A., eds. (1977):

Mycotoxins in human and animal health, 277

Pathotox Publ. Inc., Park Forest South, Illinois, USA

Hörter, R. (1968):

Kulturelle Keimzählungen an pelletierten Futtermittelproben

Zbl. Bakt. I, Orig. 207, 248-253

Hörter, R.; Klein, H. (1969):

Untersuchungen über die Eignung verschiedener Verdünnungsflüssigkeiten und Kulturverfahren für die kulturelle Keimzählung an pelletierten Futtermittelproben

Zbl. Bakt. I, Orig. 211, 248-252

Hoffland, I. (1984):

Erkrankungen durch acute- bzw. Lagerungsgebrockene
Futtermittel

Trans. Tierernähr. 11, 2-26

Hoff, W. E., Doer, C. A., Hamilton, P. B. (1977):

Poultry Science Abstr. 56, 1724

zitiert nach Halena, A.E. (1981)

Isenhardt, E. (1986):

Therapeutisch relevante Probleme bei Reintieren - Fleisch-
sünger und Vögel

Tierärztl. Umschau 41, 750-756

Jaffe, A.Z., Wager, H. (1969):

Dermatome lesions produced by topical application of
aflatoxin to rabbit skin

J. Invest. Derm. 52, 504

zitiert nach Lau Ngoc Kac (1986)

Jones, F. (1987):

Consequences of moulds in feeds

Feed International, March 1987, 27-28

Kähler, E.; Büttner, B.; Vahlitz, E.; Kähler, I.D.; Geder,
B. (1978):

Krankheit des Mastgeflügel durch Kontamination des Fut-
ters mit Fusarium moniliforme Sheldon. 2. Mitteilung:
Histologische und mykotoxikologische Untersuchungen
Zentral. Vet. Med. B 25, 19-109

Körvers, J.; Jacoby, J.R. (1986):

Das Fachgebiet Geflügelkrankheiten - Standortbestim-
mung und Zukunftsperspektiven

Arch. Tierärztl. Week. 33, 42-44

Leibetseder, J. (1981):

Die Bedeutung der Futtermittelhygiene für die Tierproduktion

Wien. Tierärztl. Mschr. 68, 278-282

Leimbeck, R. (1981):

Mikrobiologische Qualitätsprüfung von Fertigfutter

Wien. Tierärztl. Mschr. 68, 284-288

Leistner, L; Müller, G: (1987):

Toxikologische Prüfung von Schimmelpilzstarterkulturen

Referat beim 9. Mykotoxin-Workshop, Kulmbach

Lengauer, E.; Lew, H. (1981):

Über den mikrobiellen Zustand wirtschaftseigener Futtermittel

Wien. Tierärztl. Mschr. 68, 288-298

Lew, H. (1981):

Chemische Indikatoren für den Verpilzungsgrad eines Futtermittels

Wien. Tierärztl. Mschr. 68, 305-308

Lindner, E. (1986):

Toxikologie der Nahrungsmittel, 3. Auflage

Thieme, Stuttgart - New York

Locher, M. (1983):

Vergleichende serologische Untersuchung von Impfstämmen und süddeutschen Feldisolaten des Virus der Infektiösen Bronchitis der Hühner in Trachealkulturen

Vet. Med. Diss. Universität München

Locher, M.; Lohr, J.E.; Kösters, J. (1983):

Vergleichende serologische Untersuchungen von süddeutschen Feldisolaten des Virus der Infektiösen Bronchitis der Hühner und von Impfstämmen in Trachealkulturen
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 96, 269-274

Lohr, J.E. (1985):

Fehler bei der Vogelhaltung
Lehrmeisterbücherei Nr. 836, Philler, Minden

Macmillan, J.G.; Springer, J.P.; Clardy, R.J.; Kirksay, J.W. (1976):

Mycotoxins - overview
in: in: Rodricks, J.V.; Hesseltine, C.W.; Mehlmann, M.A., eds. (1977):
Mycotoxins in human and animal health, 428
Pathotox Publ. Inc., Park Forest South, Illinois, USA

Märtlbauer, E.; Terplan, G. (1985):

Ein enzymimmunologischer Nachweis von Aflatoxin M₁ in Milch und Milchpulver
Dokumentation zur 26. Arbeitstagung des Arbeitsgebiets Lebensmittelhygiene "Konzepte und Tendenzen künftiger Lebensmittelhygiene" 30.09. bis 03.10.1985, Garmisch-Partenkirchen

Mayr, A.; Bachmann, P.A.; Bibrack, B.; Wittmann, G. (1974):
Virologische Arbeitsmethoden, 1. Aufl., Band 1, 53-56
Fischer, Stuttgart - New York

Menke, K.-H.; Huss, W. (1980):

Tierernährung und Futtermittelkunde
Ulmer, Stuttgart

- Meyer, H.; Bronsch, K.; Leibetseder, J. (1983):
Supplemente zu Vorlesungen und Übungen in der Tierernährung
Sprungmann, Hannover
- Meyer, H.; Leistner, H. (1969):
Dokumentation der Mykotoxin-Literatur, 1. Mitteilung:
Aflatoxine
Arch. Lebensmittelhygiene 20, 203-206
- Michael, A.S.; Thompson, C.G.; Abramowitz, M. (1956):
Artemia salina as a test organism for bioassay
Science 123, 464
- Mirocha, C.J.; Christensen, C.M.; Nelson, G.H. (1971):
F-2 (zearalenone) estrogenic mycotoxin from Fusarium
in: Kadis, S.; Ciegler, A.; Ajl, S.J., eds.
Microbial Toxins, Vol. 7., 107-138
Academic Press, London
- Möller, J.M. (1973):
Mykotoxine in Futtermitteln
Lebensm. Unters. Forsch. 151, 231-236
- Müller, H.M. (1978):
Zearalenon - ein östrogen wirksames Mykotoxin
Übers. Tierernähr. 6, 295-300
- Müller, H.M.; Thaler, M. (1979):
Mikrobiologische Probleme der Futtermitteluntersuchung
Übers. Tierernähr. 7, 149-157
- Müller, T. (1986):
Nachweis von T 2-Toxin und Diacetoxyscirpenol in Futtermitteln durch Phytotoxizitätstests
Mh. Vet. Med. 41, 670-673

Müller, T.; Lepom, P. (1985):

Nachweis von T 2-Toxin und Diacetoxyscirpenol in Grob-
futterstoffen mit Salinenkrebslarven (*Artemia salina*)
Mh. Vet. Med. 40, 486-489

Muller, K.A. (1978):

J.S. Stewart Memorial Refresher Course Tarango Zoo,
Mosman, Sydney, N.S.W. Australia
in: Burr, E.W., ed. (1987)
Companion Bird Medicine, 69-71
Iowa State University Press, USA

Nair, K.P.C.; Colwell, W.M.; Edds, G.T.; Cardheilac, P.T.
(1970):

Use of tracheal organ cultures for bioassay of afla-
toxins
J. Ass. Off. Analyt. Chem. 53, 1258-1263

National Research Council (1984):

Nutritional requirements of poultry
8th edition, 36-40
National Academy Press, Washington D.C., USA

Neumann, K.; Bassler, R.; Seibold, R.; Barth, K. (1976):

Die chemische Untersuchung von Futtermitteln, Band III
des Hdbch. der landw. Versuchs- und Untersuchungsme-
thodik, 3. Auflage
Neumann-Neudamm, Melsungen

Niesar, K.H. (1961):

zitiert nach Wiesner, E. (1970)

Ostrowski-Meissner, H.T. (1983):

Effect on dietary aflatoxins on protein and energy
utilization by two indonesian breeds of ducklings
Poultry Science 62, 599-607

Page, R.K.; Stewart, G.; Wyatt, R.; Bush, P.; Fletcher, O.J.; Brown, J. (1980):

Influence of low levels of Ochratoxin A on egg production, egg-shell stains and serum uric-acid levels in Leghorn-type hens

Avian Dis. 24, 777-780

Palyusik, M. (1977):

Mykotoxikosen

Wien. Tierärztl. Mschr. 64, 211-266

Peckham, J.C. (1984):

Poisons and toxins

in: Hofstad, M.S., ed. (1984):

Diseases of poultry, 804-810

Iowa State University Press, USA

Peckham, J.C.; Doupnik, B. jr.; Jones, O.H. jr. (1971):

Appl. Microbiol. 21

zitiert nach Halama, A.K. (1981)

Pier, A.C. (1973):

Pathological effects: general toxic effects

in: Heathcote, J.G.; Hibbert, J.R., eds. (1978)

Aflatoxins: chemical and biological aspects, 86

Elsevier Scientific Publ. Co., Amsterdam - New York

Pohl, R. (1987):

Staatliches Tierärztliches Untersuchungsamt Aulendorf
persönliche Mitteilung

Pomeroy, B.S. (1984):

Avian Salmonellosis

in: Hofstad, M.S., ed. (1984):

Diseases of poultry, 465-467

Iowa State University Press, USA

Purchase, I.F.H.; van der Watt, J.J. (1973):

Sterigmatocystin: biological activity in experimental systems

in: Purchase, I.F.H., ed. (1974):

Mycotoxins, 377

Elsevier Scientific Publ. Co., Amsterdam - New York

Ranfft, K. (1974):

Ein Schnelltest zur qualitativen Beurteilung von Futtermitteln auf Aflatoxine

in: "Unerwünschte Stoffe in Futtermitteln und mögliche Rückstände in Lebensmitteln", Dokumentation über das MFI-Seminar am 17.-18.01.1974 in Wiesbaden, 68-74

Rhoades, K.R.; Rimler, R.B. (1984):

Avian Pseudotuberculosis

in: Hofstad, M.S., ed. (1984):

Diseases of poultry, 157-159

Iowa State University Press, USA

Robinson, A.B.; Mauly, K.F.; Anthony, M.P.; Catchpool, J.F. Pauling, L. (1965):

Anaesthesia of Artemia larvae. Method for quantitative study

Science, 149, 1255-1258

zitiert nach Behringer, J. (1972)

Rolle, M.; Mayr, A., Hrsg. (1984):

Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre, 221, 660

Enke, Stuttgart

Ruff, M.D.; Wyatt, R.D. (1978):

Influence of dietary aflatoxin on the severity of Eimeria acervulina infection in broiler chickens

Avian Dis. 22, 471-473

Rutgers, A. (1968):

Handbuch für Zucht und Haltung fremdländischer Vögel
Neumann-Neudamm, Melsungen

Schmidt, H.L. (1963):

Bemerkungen zur Vereinheitlichung der Keimzählung bei
der Untersuchung von Futtermitteln
Landw. Forsch. 16, 51-64

Schmidt, H.L. (1968):

Zur Mikrobiologie der Handelsfuttermittel
Landw. Forsch. 21, 146-163

Schmidt, H.L. (1974):

Über das Mikroorganismenvorkommen und die Möglichkei-
ten zur Steuerung des Keimbesatzes bei Futtermitteln
in: "Unerwünschte Stoffe in Futtermitteln und mögliche
Rückstände in Lebensmitteln", Dokumentation über das
MFI-Seminar am 17.-18.01.1974 in Wiesbaden, 75-87

Schmidt, H.L.; Bucher, E.; Spicher, G. (1981):

Keimgehaltsbestimmung von Bakterien, Schimmelpilzen
und Hefen in Futtermitteln. Nährböden und Methodik
Landw. Forsch. 34, 242-250

Schnabl, H. (o.J.):

Wild- und Kulturpflanzen, Futtermischungen und anima-
lische Futterstoffe zur Vogelernährung
Ornibook-Verlag, Köln

Schuh, M. (1981):

Klinische Auswirkungen der in Österreich vorkommenden
Mykotoxine
Wien. Tierärztl. Mschr. 68, 308-312

Schultz, J. (1976):

Die Mykoflora der Futtermittel als Gefahrenquelle für
die Tierproduktion

Mh. Vet. Med. 31, 788-792

Schultz, D.J. (1981):

Nutrition - Practical aspects of cage bird feeding
Proceedings No. 55, Refresher Course for veterinarians
on aviary and cage birds, 497-510

16.-20.02.1981, University of Sydney, Australia

Schultz, J; Motz, R. (1983):

Zum Nachweis von T 2-Toxin in Futtermitteln unter Ver-
wendung von Dünnschichtchromatographie und Biotest

Mh. Vet. Med. 38, 777-780

Schweighardt, H.; Leibetseder, J. (1981):

Nachweis von Mykotoxinen mit Hochdruckflüssigkeits-
chromatographie (HPLC)

Wien. Tierärztl. Mschr. 68, 302-305

Spicher, G. (1968):

Die Mikroflora des Getreides und ihre Wirkung auf die
Qualität des Getreides und der Getreideprodukte

Landw. Forsch. 15, 123-141

Spicher, G. (1973):

Chem. Rundschau 26, 21

zitiert nach Lengauer, E.; Lew, H. (1981)

Spicher, G. (1981):

Schimmelpilze und Mykotoxine in Getreide
in: Reiß, J., Hrsg. (1981):

Mykotoxine in Lebensmitteln, 45

Fischer, Stuttgart-New York

Stählin, A. (1957):

Die Beurteilung der Futtermittel, Band 12 des Hdbch.
der landw. Versuchs- und Untersuchungsmethodik
Neumann-Neudamm, Melsungen

Stein, W. (1986):

Vorratsschädlinge und Hausungeziefer
Ulmer, Stuttgart

Sturman, J.; Schults, D. (1980):

Breeding cockatiels
T.F.H. Publications, Neptune City, USA

Thalmann, A. (1974):

Bakterien- und Pilztoxine in Futtermitteln
in: "Unerwünschte Stoffe in Futtermitteln und mögliche
Rückstände in Lebensmitteln", Dokumentation über das
MFI-Seminar am 17.-18.01.1974 in Wiesbaden, 10-32

Theron, J.-J.; van der Merwe, K.J.; Liebenberg, N.;

Joubert, H.J.B.; Nel, W. (1966):

Acute liver injury in ducklings and rats as a result
of ochratoxin poisoning
J. Path. Bact. 91, 521-529
zitiert nach Behringer, J. (1972)

Tollefson, C.I. (1982):

Nutrition
in: Petrak, M.L., ed. (1982):
Diseases of cage and aviary birds, 248
Lea & Febiger, Philadelphia, USA

Ueno, Y.; Ishikawa, Y.; Amakai, K.; Nakajunia, M.; Saito, M.; Enomoto, M.; Ohtsubo, K. (1970):

Comparative study on skin-necrotizing effect of scirpene metabolites of Fusaria

Jap. J. Exp. Med. 40, 33-38

zitiert nach Wermter, R. (1980)

Unglaub, W. (1987):

Staatliches Tierärztliches Untersuchungsamt Aulendorf
unveröffentlicht

Veltmann, J.R. (1984):

Reducing the effects of mycotoxins through nutrition
Feed International, May 1984, 33-36

Verrett, M.J.; Marliac, J.-P.; McLaughlin, J. jr. (1964):

Use of the chicken embryo in the assay of aflatoxin
toxicity

J. Ass. off. Analyt. Chem. 47, 1003-1006

Wermter, R. (1980):

Untersuchung des Toxinbildungsvermögens in Futtermitteln
vorkommender Fusarien mit physikalisch-chemischen
und biologischen Methoden

Vet. Med. Diss. Universität München

Wernery, U.; Hilliger, H.G. (1972):

Beitrag zur Technik und Bewertung der Keimzahlbestimmung
bei mehlartigen Futtermitteln

Landw. Forsch. 26, 110-117

Wiesner, E. (1970):

Ernährungsschäden der landwirtschaftlichen Nutztiere
VEB Fischer, Jena

Williams, C.M.; Colwell, M.; Rose, L.P. (1979):

Genetic resistance of chickens to aflatoxin assessed
with organ-culture techniques

Avian Dis. 24, 415-422

Wilson, B.; Austwick, P.; Diener, U.; Sreenivasammurthy, V.
Matsaura, S. (1977):

Panel on other mycotoxins of possible health significance.
Recommendation for further research
in: Rodricks, J.V.; Hesseltine, C.W.; Mehlmann, M.A.,
eds. (1977):

Mycotoxins in human and animal health, 583

Pathotox Publ. Inc., Park Forest South, Illinois, USA

Wirth, H. (1978):

Kriterien und Methoden zur Auswahl von Rohstoffen für
die standardisierte Versuchstierernährung

Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 91, 214-217

Wiskott, U. (1978):

Untersuchungen über die immunsuppressive Wirksamkeit
von Fusarientoxinen

Vet. Med. Diss. Universität München

Wyatt, R.D.; Weeks, B.A.; Hamilton, P.B.; Burmeister, H.R.
(1972):

Appl. Microbiol. 24, 251-257

zitiert nach Bauer, J. (1982)

Herrn Professor Dr. J. Kösters danke ich herzlich für die Annahme meiner Arbeit und die wertvollen Hinweise für die Methodik und Darstellung der Ergebnisse.

Herrn Ltd. Reg. Vet. Dir. Dr. B. Müller, Leiter des Staatlichen Tierärztlichen Untersuchungsamtes Aulendorf, danke ich für die Ermöglichung dieser Arbeit durch die großzügige Bereitstellung der Einrichtungen des Untersuchungsamtes.

Den Kollegen Dres. J. Lohr, W. Unglaub und R. Pohl danke ich herzlich für die Überlassung des Themas.

Besonders bedanke ich mich bei Herrn Dr. Lohr für die vielfältige wissenschaftliche Anleitung, die gute Zusammenarbeit und freundliche Betreuung bei der gesamten Arbeit.

Ebenso danke ich Herrn Dr. W. Unglaub für seine Unterstützung bei der Anfertigung der chemischen und mykotoxikologischen Teile und Herrn Dr. R. Pohl für seine Ratschläge beim mikrobiologischen Teil der Arbeit.

Bei Frau Dr. Dr. habil. H. Gerlach bedanke ich mich für die kritische Durchsicht des Manuskriptes und ihre nützlichen Ratschläge.

Herrn OVR Dr. R. Adam, Aulendorf und der Firma A. Weiß, Vermehrungszucht GmbH, 7959 Kirchberg/Iller, danke ich für die Bereitstellung der männlichen Hühnerküken, Herrn Schwerk, Moorhof Schwerk, 2117 Wistedt/Nordheide für die Überlassung wertvoller Entenküken.

Weiterhin gilt mein Dank allen Mitarbeitern der Abteilungen Virologie, Klinische Chemie und Bakteriologie am Staatlichen Tierärztlichen Untersuchungsamt Aulendorf für ihre Hilfsbereitschaft bei den umfangreichen Versuchsdurchführungen in den verschiedenen Abteilungen.

LEBENS LAUF

Sigrid Karle

- 23.11.1961 geboren als Tochter des Dipl.-Forsting.(FH)
Alfred Karle und seiner Ehefrau Paula in
Reutlingendorf, Alb-Donau-Kreis
- 1968 - 1972 Besuch der Grundschule Obermarchtal
- 1972 - 1981 Besuch des Kreisgymnasiums Riedlingen
Juni 1981 hier Abitur
- WS 1981/82
bis SS 1986 Studium der Veterinärmedizin an der Freien
Universität Berlin
- Februar 1987 Staatsexamen und Approbation
- seit März 1987 Arbeit an vorliegender Dissertation am
Staatlichen Tierärztlichen Untersuchungsamt
Aulendorf

